



氷の物理と化学の新展開

北海道大学 <mark>低温科学研究所 編</mark>

Edited by Institute of Low Temperature Science, Hokkaido University

はじめに

氷は地球上で極めて大量に存在するため、その相転移(凍結や融解・昇華)は地球の寒 冷圏で起こる様々な自然現象を支配する.降雨や降雪は氷の相転移そのものであるし、積 雪や氷河・氷床での太陽光の反射は地球の気温を左右する.また、太陽系の起源や宇宙で の物質進化にも氷は重要な役割を果たすし、凍結の促進/抑制は食品・臓器の保存や寒冷 地での生物の耐凍戦略と直結している.さらにクラスレートは、近未来のエネルギー源と してその利用が期待されている.このように氷に関わる諸問題は、重要な問題であるにも 関わらず研究分野が多岐にわたるため、これまでそれぞれの分野で別々に議論されてき た.その結果、現象の根幹についての共通的理解が不足していた.

このような状況を打開するため、北海道大学低温科学研究所の共同研究制度「萌芽研究 課題:氷の物理と化学の新展開」では、水や氷、クラスレートを研究対象とする研究者が 分野を超えて一堂に集まる研究会を 2010 年度より催し、氷研究のためのコミュニティの 発展を図って来た.また、2010 年には氷の物理と化学に関する全ての研究分野を網羅し た唯一の国際会議 "International Conference on Physics and Chemistry of Ice (PCI-2010)"を北海道大学で開催した.萌芽研究課題が 2013 年 3 月末で 3 年間の期間をもって 終了するにあたり、これまでの氷に関わる研究コミュニティのアクティビティをまとめる べく、低温科学研究所の紀要誌である「低温科学」の第 71 巻として、特集号「氷の物理 と化学の新展開」の発刊を計画した.

本特集号では、1)氷の表面界面・微小領域の水の性質、2)生体内の水・氷・クラス レート、3)氷の分子運動とポリモルフィズム、4)クラスレート、の4つの観点から、 全21編の研究成果をまとめた.本特集号が、氷に関する分野横断的な理解とこれからの コミュニティのさらなる発展につながることを祈念する.

本特集の編集は,第71巻編集委員会(佐崎 元,内田 努,古川義純)が担当した. 最後にこの場を借りて,論文を投稿された全ての著者と論文の審査を引き受けていただい た査読者の皆様に感謝申し上げます.

「低温科学」第71巻編集委員会

目次

1. 氷の表面界面・微小領域の水の性質

 ・氷結晶表面での単位ステップと擬似液体層の 	の直接光学観	見察													
/	佐 﨑	元,	サルバト	デール	ゼイ	ペダ,	中	坪	俊	─,	古	Ш	義	純	1
 ・レーザー捕捉法を用いた単一過冷却水滴の 	東結過程の値	直接観測	則 石	坂	₿	司,	山	内	邦	裕,	喜多	多村		曻	15
 ・不凍タンパク質の氷界面吸着に関する分子動 	動力学シミコ	レーミ	ション研	究							灘		浩	樹	23
・氷を機能性材料とする分離と計測法の展開			高	橋	32	つき,	\square	崎	友在	支子,	岡	Ξ	哲	男	29
・−35℃の過冷却状態までの水の構造			横	山	晴	彦,	梶	原	み」	:子,	菅	野		等	39
・X線ラウエ法による氷結晶の方位解析											宮	本		淳	59
2. 生体内の水・氷・クラスレート															
・不凍糖タンパク質の氷/水界面吸着と結晶成 古 川 義 約	長制御 屯, Salvado	r Zepe	eda, 宇	田	幸	弘,	中	谷	浩	之,	中	坪	俊	_	69
・ラット心筋細胞の常温保存研究 — ガス印灯	加の影響 — 奥 平	- : 俊	樹,永	山	昌	史,	郷	原	_	寿,	内	田		努	81
Dependence of freeze-concentration inhib Takuya Yamanon	ition on an uchi, Nang Yoshiyuki	tifreez Xiao, Nishi	e prote Yuichi miya, A	in Han Ai Mi	ada, iura,	Tats Hid	suro ema	Kar sa K	nijin Londo	na, N o, an	/Iam d Sa	i Sal akae	kash Tsu	ita, Ida	91
・植物組織におけるガスハイドレートの形成る	とその影響・		則	竹(安	藤)〕	簀子,	鈴	木		徹,	大	下	誠	<u> </u>	97
Raman spectroscopic measurements on D	DEPC liposo	ome: pl	hase tra	ansiti	on o	bser - Ts	vatio sutoi	on u mu l	nder Jchio	Xe-g la, J	gas j Ama	press ideu	ure K. S	um	105
3. 氷の分子運動とポリモルフィズム															
 アモルファス氷の構造緩和とポリアモルフィン 	ィック転移・										鈴	木	芳	治	111
・氷高圧相におけるプロトンダイナミクス											飯	高	敏	晃	121
・高温高圧水の構造と動的性質							池	田	隆	司,	片	山	芳	則	125
・プラスチック氷の構造とダイナミクス			樋	本	和	大,	松	本	Æ	和,	田	中	秀	樹	131
4. クラスレート															
・天然ガスハイドレート結晶構造に及ぼすガン ―― ロシア・バイカル湖の結晶構造 II 型ハイ	スの組成とそ イドレートの	その起派)例 —	亰 								八之	又保	晶	弘	141
・クラスレート水和物の分解と氷の結晶成長 ――自己保存現象のメカニズム ――											竹	谷		敏	153
・立体フラーレン型化合物の構造選択則							松	本	Æ	和,	田	中	秀	樹	161
・Filled ice Ic 水素ハイドレートの低温高圧「	Fにおける相 平 井	1変化 : 寿	子, 香	Л	慎	伍,	田	中	岳	彦,	松	岡	岳	洋	
	八木	建	彦,大	石	泰	生,	Щ	本	佳	孝,	大	竹	道	香	173
•水素クラスレートハイドレートの水素吸収[又応速度と固	回体内热	広散								奥	地	拓	生	181
・ラジカル観察から明らかとなったガスハイ 谷 篤	ドレートの特 史,菅原		武, 大	島		基,	竹	家		啓,	大	垣		成	187

氷結晶表面での単位ステップと 擬似液体層の直接光学観察

佐崎 元^{1,2)}, サルバドール ゼペダ^{1,†)}, 中坪 俊一¹⁾, 古川 義純¹⁾

2012年9月5日受付, 2012年11月20日受理

氷は地球上で極めて大量に存在するため,その相転移(成長や融解・昇華)は様々な自然現象を支 配する.特に氷結晶の表面は,相転移が進行するのみならず,様々な物理的・化学的過程の鍵を握 る.そのため,氷結晶の表面を分子レベルで理解することは極めて重要であるが,そのような観察手 法がこれまではなかった.そこで我々は,株式会社オリンパスエンジニアリングと共同で開発した レーザー共焦点微分干渉顕微鏡に,その性能を極限まで引き出すべくさらに改良を加えた.そして, 過飽和水蒸気中で成長させた氷結晶(雪結晶と同じ)の表面で,単位ステップ(結晶表面に偏在する 分子層の端)を直接観察することに初めて成功した.これにより,氷結晶が成長する様子を初めて分 子レベルで追跡することが可能となった.また,同じ手法を用いて,氷結晶の表面が融点(0℃)以 下の温度で融解する過程を初めて可視化することにも成功した.その結果,形態とダイナミクスが全 く異なる2種類の表面液体相(擬似液体層)が出現する事を見出した.本成果は,表面液体相が重要 な役割を果たす幅広い現象の機構解明に役立つと期待される.

In-situ observation of elementary steps and quasi-liquid layers on ice crystal surfaces by advanced optical microscopy

Gen Sazaki^{1,2}, Salvador Zepeda^{1,†}, Shunichi Nakatsubo¹, Yoshinori Furukawa¹

Due to the abundance of ice on earth, the phase transition of ice plays crucially important roles in various phenomena in nature. Hence, the molecular-level understanding of ice crystal surfaces holds the key to revealing various phenomena, although so far there has been no means for molecular-level observation. Hence, we tried to improve a laser confocal microscope combined with a differential interference contrast microscope (LCM-DIM), which was developed by us and Olympus Engineering Co., Ltd. Then we succeeded in directly visualizing elementary steps (the growing ends of ubiquitous molecular layers with the minimum height) of ice crystals and their dynamic behavior at air-ice interfaces. We could also directly visualize surface melting processes of ice crystals at temperatures below the melting point (0°C). Then we found that two types of surface-liquid phases (quasi-liquid layers) appear that exhibit different morphologies and dynamics. Such novel insights into the nature of surface-liquid phases may play a crucially important role in understanding a variety of phenomena in which surface-liquid phases play a vital role.

1. はじめに

氷は地球上で極めて大量に存在するため、その相転移

- 2)科学技術振興機構さきがけ研究(2012年3月まで)
- † 現所属: CCZ Crystal R&D, MEMC Electronic Materials, Inc.
- ¹ Institute of Low Temperature Science, Hokkaido University, Sapporo, Japan
- ² Precursory Research for Embryonic Science and Technology (PRESTO), Japan Science and Technology Agency (until March 2012)

(成長や融解・昇華) は地球の寒冷圏で起こる様々な自 然現象を支配する.また,氷結晶の表面は,紫外線によ るオゾン・有機物の分解や,不凍タンパク質による寒冷 地の動植物の凍結防止など,多くの物理的・化学的・生 物的過程の鍵を握る.そのため,氷結晶の表面を分子レ ベルで理解することは極めて重要である.しかし,氷結 晶の場合には,単位ステップ(結晶を構成する分子層の 成長端で,結晶表面に偏在し,相転移機構の鍵を握る) を結晶の成長中に可視化することはこれまでだれもでき ず,相転移や多くの物理的・化学的・生物的過程のメカ ニズムは想像されるにとどまっていた.

その原因は、原子間力顕微鏡(AFM)などの走査型

¹⁾ 北海道大学低温科学研究所

プローブ顕微鏡や電子顕微鏡の使用が,氷結晶表面では 極めて困難なことにある.氷結晶は融点直下という超高 温下で成長するため,表面融解により生成する擬似液体 層(固体と液体の中間の性質を有する層)がカンチレ バーによる走査を困難にする.また,1気圧大気中では 電子顕微鏡も動作しない.そのため,試料表面に完全に 非接触であり,かつ環境を問わない光学顕微法は,氷結 晶の表面を観察するための極めて有望な手法になり得 る.

我々はこれまで株式会社オリンパスエンジニアリング と共同で、レーザー共焦点微分干渉顕微鏡(LCM-DIM)を開発し(Sazaki et al., 2004), さらにその性能 を極限まで向上させることで、結晶表面上の原子・分子 レベルの段差を可視化することに成功した(Sazaki et al., 2010).まず、この顕微鏡と、過飽和水蒸気から成 長する氷結晶(雪結晶と同じ)の表面観察を行うシステ ムについて説明する.そして、過飽和水蒸気から成長す る氷結晶表面上の単位ステップの光学その場観察につい て紹介する(Sazaki et al., 2010).最後に、本光学顕微 法を用いて氷結晶の表面融解過程をその場観察したとこ ろ見出した、氷の新しい融け方について述べる(Sazaki et al., 2012).

2. レーザー共焦点微分干渉顕微鏡および氷結晶 表面観察システム

我々は株式会社オリンパスエンジニアリングと共同で 2004年に、レーザー共焦点顕微鏡 (Laser Confocal Microscope: LCM, オリンパス製・FV300) と微分干 涉顕微鏡 (Differential Interference contrast Microscope: DIM) を組み合わせることで、水溶液中のタン パク質結晶表面の単位ステップ(数~6nm高さ)を, 極めて高いコントラストで、結晶の成長中にその場観察 することに成功した (Sazaki et al., 2004). しかし, 氷 結晶表面の単位ステップの予想される高さは0.37 nm と極めて小さい (Hobbs, 1974). そのため, レーザー 共焦点微分干渉顕微鏡(LCM-DIM)をさらに改良した (Sazaki et al., 2010). 図1Aに, LCM-DIMの光路図 を示す. 光源には,可干渉長が10 µm 程度と極めて小 さい super luminecsent diode (SLD, 波長 680 nm, 半 値全幅 23 nm)を用い,不要な干渉縞の発生を防いだ. また、銀ナノ粒子を配列させた偏光子と偏光ビームスプ リッターを用い, 検光子を除去することで, 光量の低下 を押さえながら偏光特性を向上させた. さらに, 偏光特 性を落とさぬ様, 倍率が 10 倍以下の対物レンズを用い た. 偏光特性の向上は微分干渉コントラストを向上さ せ,光量低下の抑制はシグナル-ノイズ (SN) 比を向 上させた.

改良を施した LCM-DIM で観察した石膏結晶の表面

モルフォロジーを図2Aに示す.図2Bは,全く同じ部 分を原子間力顕微鏡で撮影した像と結晶表面の高さ分布 を示す.両図を見比べると,石膏結晶表面の高さ0.75 nmのステップが光学顕微鏡を用いて十分なコントラス トで可視化できることが分かる.また最近,LCM-DIM を用いてWenらは,金結晶 {111}面上の単原子ス テップ(0.25 nm高さ)のその場観察にも成功している (Wen et al., 2010).光学顕微鏡の横方向の分解能は, 使用する光の波長の制限を受けるため,サブミクロン程 度が限度である.しかし,試料高さ方向のわずかな高低 差にコントラストを与えることには,物理的制限がな



図1:実験装置の模式図(Sazaki et al., 2010):(A)レー ザー共焦点微分干渉顕微鏡(LCM-DIM)システム,観察 チャンバー,および水蒸気供給システム;(B)観察チャン バーの断面図;(C)(D)へき開した AgI単結晶上にヘテロエ ピタキシャル(C)およびランダム(D)に核形成・成長した氷 結晶の,明視野光学顕微鏡像と結晶方位.図B中の挿入図: (右上)上部銅プレートに固定した AgI単結晶の拡大図; (中上)AgI結晶基板上にヘテロエピタキシャルに成長した Ih 氷結晶の明視野光学顕微鏡像;(左上)Ih 氷結晶のモル フォロジー.



図2:石膏結晶のへき開面({010} 面)の顕微鏡写真(Sazaki et al., 2010).同じ結晶表面を,レーザー共焦点微分干渉顕微鏡(LCM-DIM)システム(A)および原子間力顕微鏡(B)で観察した.図B中の挿入図は,実線A-Bに沿った高さ分布を示す.図AとBを比較することより,石膏結晶表面上の高さ0.75 nmのステップが,LCM-DIMによって十分なコントラストで可視化できていることがわかる.

い.そのため工夫次第で,光のわずかな位相差を,光の 十分な強度差に変換することが出来る.光学顕微鏡の高 さ方向の分解能は原子間力顕微鏡に匹敵しうることが御 分かりいただけると思う.

本研究では、光の位相差を強度差に変換するために、 微分干渉顕微法を用いた.本手法を用いると図3に模式 的に示したように、平らな部分に比べて斜面の片方はよ り明るく、もう片方はより暗く示される.本論文中の全 てのレーザー共焦点微分干渉像は、図2Aに示したよう に、あたかも結晶表面が画面左上から右下方向に傾けた 光で照明されているかの様な微分干渉コントラストが与 えられている.

図1Bに,氷結晶観察用チャンバーの断面の模式図を 示す.観察用チャンバーは,テフロン板が2つの銅板で サンドイッチされた構造を持つ.上部および下部の銅板 の温度は,ペルチェ素子を用いて独立に制御できる.上 部銅板の中央に,氷の不均一核形成を促進させる材料と して良く知られている AgI 単結晶をへき開したものを, 熱グリースを用いて貼付けた (AgI 結晶は北アリゾナ大 学の Gary Layton 名誉教授からいただいた).

AgI 結晶上で, 氷結晶を以下の手順で成長させた.ま ず,上部および下部の銅板の温度をそれぞれ T_{sample} = 20.0, T_{source} = -15.0°Cにセットし,水をバブリングさ せた窒素ガスを流して水蒸気を供給した(流速500 mL/min).水蒸気供給用の氷結晶を下部銅板上に1時 間成長させた後,2つのバルブを閉じ,チャンバーへの 水蒸気の供給を停止した.そして,上部および下部の銅 板の温度をそれぞれ T_{sample} = -15.0, T_{source} = -13.0°Cに2時間セットし,へき開した AgI 結晶上に 試料用の氷結晶を核形成・成長させた.図1 Bの挿入図 に示した様に,大部分の氷結晶がヘテロエピタキシャル に成長したため,氷結晶は同じ配向を示している.その 後,氷結晶の幅と高さが約数 100 μ m に達するまで, $T_{sample} = -15.0, T_{source} = -14.0^{\circ}$ Cで氷結晶を成長させた.

図1CとDに,通常の明視野光学顕微鏡で観察した氷 結晶のベーサル面とプリズム面を示す.ヘテロエピタキ シャル成長したベーサル面(図1C)の場合には, *c* 軸 が紙面垂直に配向している.水蒸気の過飽和度を大きく すると,ランダムに核形成した氷結晶の数が増加し,プ リズム面が光軸と垂直に配向した結晶(図1D)も稀に 得られた.結晶面の方位は,ファセット面が良く発達す



図3:微分干渉コントラストの模式図(Sazaki et al., 2012). 偏光の干渉を利用することで,あたかも試料表面を斜め上方 から照明したかのようなコントラストを得ることができる. 図A(断面図)およびB(上面図)に模式的に示したよう に,平らな部分に比べて,斜面の片方はより明るく,もう一 方はより暗く示される.本論文中の全てのレーザー共焦点微 分干渉像には,画面左上から右下方向に傾けた光で照明され たかの様な微分干渉コントラストが与えられている.

る-15℃で決定した.

観察チャンバー内部で,試料用の氷結晶は水蒸気の供 給源となる氷から16 mm 離れた位置にある.水蒸気が 供給源の氷から蒸発し,大気圧の窒素ガス中を拡散する につれてその温度は上昇するため,試料氷結晶近傍での 水蒸気の温度がよくわからず,水蒸気の過飽和度を正確 に定量することができなかった.この点の改良は今後の 課題である.本稿では以降,実験条件を規定するため に,単に T_{sample} および T_{source} を記した.

3. 氷結晶の単位ステップの光学その場観察

過飽和な水蒸気中で成長する氷結晶(雪結晶と同じ) の表面を観察した一例を図4に示す.氷結晶のベーサル 面上で,2次元島状の丸い分子層が多数出現し,それら が横方向に広がり互いに合体することで,氷結晶は層状 に成長することがわかる(画像は0.57 s 毎に撮影).図 中の+印で示した様に,隣り合った分子層が合体する と,分子層の縁(ステップ)のコントラストは完全に消 滅した(動画は論文(Sazaki et al., 2010)の Movie S2).このような2次元島の合体に伴うステップのコン トラストの消滅は,氷結晶表面上のいたるところでラン ダムに観察された.この結果は,現れた丸い2次元島 が,氷結晶表面上での2次元核形成により生成されたこ とを示す.隣り合った2次元島が合体した後に,ステッ プのコントラストが完全に消滅しなかった例は全く観察 されなかった.

多くの結晶は,光学顕微鏡による観察に適した表面構 造を持つ.結晶はブロックを1つ1つ積み上げるよう に,分子を積み上げることで成長する.また,分子を積 み上げる際には,図5に模式的に示したように,分子層 の端(単位ステップと呼ばれる)に分子が組み込まれ,



図4: Ih 氷結晶のベーサル面上での表面モルフォロジーの光学顕微鏡像(Sazaki et al., 2010). 2 次元核成長している様子の経時変化: 0 s(A), 0.57 s(B), 1.14 s(C), 1.72 s(D). 図BとD中の十字印は, 隣り合った 2 次元島が合体した際に, ステップのコントラストが完全に消滅した部位を示す.成長条件: $T_{sample} = -10.0$, $T_{source} = -9.3^{\circ}$ C. これらの像を得るために,論文(Sazaki et al., 2010)の Fig. S1 で示した画像処理を行った.



図5:結晶が層状成長する模式図(Sazaki et al., 2012).

単位ステップが横方向に成長することで,結晶は一層づ つ層状に成長する(単位ステップの厚みは,分子の大き さと結晶構造から一つに定まる).そのため,結晶の成 長を理解するには,その大本となる単位ステップの動的 挙動をその場観察する必要がある.

我々が可視化したステップ(図4)が単位ステップで あることは、次の様に証明できる.もし、氷結晶表面上 に, 高さが顕微鏡の検出限界よりも低いために「可視化 できていないステップ」があると仮定すると,可視化で きるステップと可視化できないステップの衝突が必ず起 こる.これら2つのステップの高さの差が検出限界より も小さいと、これまで可視化できていたステップの一部 が突然見えなくなる事態が必ず生じなければならない. また、このような事態が生じる確率は、検出限界の高さ が増大するとともに(顕微鏡の性能が下がるとともに) 増大する (Suzuki et al., 2009). しかし, このような事 態の発生は、数100回以上の表面観察を通じて一度も観 察されなかった.この結果は、氷結晶表面上のステップ の高さは全て検出限界高さ以上であり、全てのステップ が可視化できたことを, すなわち氷結晶表面上で高さが 最も小さい単位ステップを観察できたことを示す.

また,その妥当性が様々な実験により証明されている 古典的核形成理論からも,我々が確かに単位ステップを 観察できたことが,以下のように示される.単位高さの 分子層が i 層重なった,多層の 2 次元島が核形成する頻 度 $J^{2D}(i)$ は下記で表される (Chernov, 1984; Markov, 1995):

$$J^{2D}(i) = \widetilde{\omega} \Gamma C_1 \cdot \exp\left(-\frac{i \cdot \Delta G(1)}{k_B T}\right). \tag{1}$$

ここで、 $\tilde{\omega}$ は臨界核に水分子が吸着する頻度、 Γ はゼル ドビッチ因子、 C_1 は結晶表面上に吸着している水分子 の密度、 $\Delta G(1)$ は単層(単位ステップ高さ)の2次元 核形成が起こる際の活性化自由エネルギー障壁、 k_B は ボルツマン定数、Tは絶対温度を示す.式(1)を変形 すると、 $J^{2D}(i) \geq J^{2D}(1)$ (単層の2次元核形成頻度)の 比は下記で表される:

$\frac{J^{^{2D}}(i)}{J^{^{2D}}(1)} =$	$\left[\exp\left(-\frac{\Delta}{2}\right)\right]$	$\frac{\Delta G(1)}{k_B T} \bigg) \bigg]^{(i-1)} =$	$= \left[\frac{C(1)^*}{C_1}\right]^{(i-1)}$	$^{1)}\approx 0, (2)$
770 0	(1) *))) .	+ + + +	の単同の時度	

ここで, C(1)* は氷結晶表面上での単層の臨界核の密度 を示す. C(1)* は C_1 に比べて圧倒的に小さいため, $J^{2D}(1)$ に比べて $J^{2D}(i)$ も無視小である. そのため, 我々は, LCM-DIM で可視化できた 2 次元島は単層で あり,単位ステップからなると結論できる.

氷結晶表面上の単位ステップを,AFM を用いて観察 することに成功した例が,これまでに一つだけ有る.ゼ ペダらは,氷結晶表面上を有機溶媒(オクタン)で覆う ことでAFM 観察に成功した(Zepeda, 2004).彼らが 測定した単位ステップの高さ0.29 nm は,AFM 測定の 高さ方向の誤差を考慮すると,図6に示した結晶構造か ら予想される高さ0.37 nm とよく一致する(Hobbs, 1974).すなわち,我々は氷結晶表面上の高さ0.37 nm の単位ステップを,その成長中に光学的に可視化できた ことになる.

大きな過飽和度下で氷結晶を AgI 基板結晶上に核形 成させると、ランダムな配向で生成した氷結晶が観察さ れる.その中でもまれな場合には、プリズム({1010})) 面が光軸に対して垂直となり、プリズム面上の表面モル フォロジーを観察することが出来た.結果は示さない が、プリズム面上でも図4に示した様な2次元核成長が 観察できた.この場合にも、2次元島の合体に際して、 常にステップのコントラストが完全に消滅することよ り、単位ステップを観察できていると結論できた.この 場合には、0.39 nm 高さの単位ステップが観察できたこ とになる(Hobbs, 1974).

また、ベーサル面・プリズム面共に、2次元核成長以 外の重要な結晶成長機構である渦巻成長で成長している 結晶も観察された.この機構で成長している単位ステッ プをその場観察できれば、氷結晶に関してさらなる情報 を得ることが出来る.図7に、同じ観察チャンバーの内 部でたまたま隣り合っていた2つの結晶で、ベーサル面 (A)とプリズム面(B)の両方が渦巻成長していた例を示 す.図中ではらせん転移の位置は、白矢印頭で示されて いる.両方の結晶は隣り合っていたため、両結晶が感じ た過飽和度はほぼ同じであったと考えられる.それにも 関わらず、両者の示す渦巻ステップの間隔は、ベーサル 面のもの($l^{basal} \cong 100 \mu$ m)の方がプリズム面のもの ($l^{prism} \cong 5 \mu$ m)よりもはるかに長かった.渦巻成長す るステップの間隔は次式で表される(Chernov, 1984; Markov, 1995):

$$l = 19 \ \rho_c = 19 \frac{S\kappa}{\Delta\mu}.$$
 (3)

ここで、 ρ_c は臨界2次元核の半径、sは2次元核の内部 で1分子が占める面積、 \varkappa はステップレッジの自由エネ ルギー、 $\Delta \mu$ は結晶化の駆動力を示す.そのため、2つ



図 6: Ih 氷結晶ベーサル面の断面の模式図(Sazaki et al., 2010). 灰色および赤色の原子 はそれぞれ酸素と水素を示す.水分子よりなる二重層(Bilayer)が*c*軸方向に 0.37 nm ごとに積層した構造を持つ.



図7: Ih 氷結晶のベーサル面(A) およびプリズム面(B)の光学顕微鏡像(Sazaki et al., 2010).両結晶面上で、らせん転位(図中の白矢印頭)により生じた渦巻成長ステップが観察される.これら2つの結晶は、同じ AgI 結晶上で隣り合った位置にあったため、両結晶が感じた過飽和度はほぼ同じであったと考えられる.成長条件: $T_{\text{sample}} = -15.0$, $T_{\text{source}} = -16.0^{\circ}$ C. T_{sample} が T_{source} よりもわずかに高いが、単位ステップが成長する様子が確認されたことより、水蒸気は過飽和状態にあった.

の結晶面での渦巻ステップ間隔の比はステップレッジ自 由エネルギーの比に相当する:

$$\frac{l^{basal}}{l^{prism}} = \frac{\kappa^{basal}}{\kappa^{prism}} \cong 20.$$
(4)

 κ^{prism} が κ^{basal} に比べて極めて小さいことは、プリズム 面ではベーサル面よりもより低い温度で容易にサーマル ラフニングが観察されることと(Kuroda and Lacmann, 1982)、定性的に一致する.

以上に示したように、レーザー共焦点微分干渉顕微鏡 を用いると氷結晶の単位ステップを可視化できるため、 氷結晶の成長や融解・昇華などの相転移機構を分子レベ ルで明らかにする研究を、今後展開できる.次節では、 その一例として氷結晶の表面融解過程を直接観察した例 を紹介する.

4. 氷結晶の表面融解過程の光学その場観察

表面融解は氷結晶の表面で起こる一次相転移の一つ で,融点以下の温度での氷結晶の表面特性を支配する (Li and Somorjai, 2007; Petrenko and Whitworth, 1999; Wettlaufer and Dash, 2000).表面融解に伴い生 成する擬似液体層は,スケートの滑りやすさや復氷,霜 柱による凍上,氷結晶粒の再結晶化や粗大化,雪結晶の 形の変化,食品や臓器の低温保存,雷雲での電気の発生 など,幅広い現象の鍵を握ると考えられている.そのため,これらの現象の秘密を解き明かすためには,擬似液体層の正体を分子レベルで解明する必要がある.

融点以下の温度での氷の融解に伴う擬似液体層の生成 は、マイケル・ファラデーによって1850年代に初めて 提唱された(Faraday, 1850).しかし、表1に示すよう に、1980年代になってようやく実験的な計測が行われ はじめた.しかし、これまで十分な空間的・時間的分解 能を持つ観察技術がなかったため、誰も表面融解過程を 直接可視化できなかった.そこで本研究では、十分な空 間的・時間的分解能を持つレーザー共焦点微分干渉顕微 鏡(LCM-DIM)(Sazaki et al., 2010)を用いて表面融 解過程のその場観察に挑戦した.

まず,AgI単結晶のへき開面上に -15.0° Cで氷結晶を 成長させた後,徐々に試料温度を -0.1° Cまで上げた (-15.0から -2.0° Cまでは 0.1° C/min,-2.0から -0.1° Cまでは 0.02° C/min).昇温中は常に氷結晶表面 の単位ステップをその場観察し,結晶が成長しているこ とを確認した.図8に試料氷結晶のベーサル {0001} 面 の表面モルフォロジーを示す. -0.6° Cでは(図8A), 単位ステップ(黒矢印頭)が成長する(黒矢印方向)様 子が観察できた.この結果は, -0.6° Cではベーサル面 は分子レベルでフラットで,層状成長していることを示 す.

一方, -0.4°Cまで昇温すると(図8B)丸い物体 (白矢印頭)が発生し, -0.3°Cでは(図8C)丸い物体 は数を増し, そのサイズも大きくなった.あたかも氷結 晶表面が左上から右下方向に傾けた光で照明されている かのように微分干渉コントラストが設定されているた め,丸い物体の左上・右下部分がそれぞれ白く・黒く示 されている.これらの丸い物体は正に液滴のように合体 した(動画は文献(Sazaki et al., 2012)の Movie S1). そのため,我々は丸い物体を α -表面液体相と名付けた (本稿では単に「層」ではなく「相」であるという意味 を込めて,以後,擬似液体層ではなく表面液体相と呼ぶ).

1993年にエルバウムらが、干渉光学顕微鏡観察により、 $-0.4 \sim -0.2$ °Cの温度領域でベーサル面上に丸い液 滴が生成することを報告している(Elbaum et al., 1993).また、その後、権田らも微分干渉顕微鏡を用い て同様の報告をしている(Gonda et al., 1999).これら の報告での丸い液滴は、恐らく本研究での α -表面液体 相に相当すると考えられる.本研究では、 α -表面液体 相の生成に加えて、いったん生成した後は、 α -表面液 体相が単位ステップの発生源になることが分かった(図 8 Cの黒矢印頭).

我々は、 α -表面液体相の3次元形状を、光干渉縞を 用いて計測した(図8D).隣り合った干渉縞の間隔は 半波長分の高低差に相当するため、図8D中の白矢印頭 で示した α -表面液体相の場合、幅が50 μ mで高さが 0.5 μ mとわかる. α -表面液体相の高さ/幅の比が約 1/100と極めて小さいことは、固体の水(氷)と液体の 水とのぬれ性が極めて良いことを示し、 α -表面液体相 がステップの源になることを指示する.

図9に、さらに温度を上げた際の氷結晶表面の様子を 示す. -0.2° Cになると薄い層状の物体(図9Aの赤矢 印頭)が新たに生成した. α -表面液体相はこの薄い層 状の物体および結晶表面の両方から生成した. さらに温 度が -0.1° Cの時の氷結晶表面を図9B-Dに示す.明 るいコントラストで示された単位ステップ(黒矢印頭) が画面左側方向に成長することがわかる. この結果は、 氷結晶の左側は確かに成長しており、氷結晶の温度は確 かに融点(0°C)よりも低いことを示す. そのため、画 面右側に示された結晶表面の融解も融点以下で起こって いるものと結論できる. 薄い層状の物体は、次第に氷結 晶全表面を覆った(図9D). 薄い層状の物体はずつ

表1 擬似液体層の厚みの温度依存性を計測したこれまでの研究例;これら全ての研究は,温度上昇に伴う擬似液体層の厚みの急激な増加を示した;しかし,手法および研究者によって,その結果には最大で2桁程度の大きな差が見られた(その結果の一部は文献(Elbaum et al., 1993)の図1にまとめられている);擬似液体層に関しては分子動力学法や理論計算によっても多くの研究がこれまでになされているが,それらについてはここには挙げていない

計測方法	文献
陽子チャネリング	(Golecki and Jaccard, 1977; 1978)
陽子後方散乱	(Frenken et al., 1986; Pluis et al., 1987)
偏光解析	(Beaglehole and Nason, 1980; Furukawa et al., 1987)
X線回折	(Dosch et al., 1996; Kouchi et al., 1987)
斜入射X線回折	(Dosch et al., 1995; Lied et al., 1994)
準弾性中性子散乱	(Maruyama et al., 1992)
光電子分光	(Bluhm et al., 2002; Nasson and Fletcher, 1975)
核磁気共鳴法	(Kvlividze et al., 1974; Mizuno and Hanafusa, 1987)
光学顕微法	(Elbaum et al., 1993)
光学的厚み測定	(Kaverin et al., 2004)
赤外線分光	(Sadtchenko and Ewing, 2003)
原子間力顕微鏡法	(Bluhm and Salmeron, 1999; Doppenschmidt and Butt, 2000; Salmeron and Bluhm, 1999)



図8:温度の上昇に伴う,氷結晶ベーサル面上での丸い液滴状の擬似液体層 (α -表面液体相:白矢印頭)の生成 (Sazaki et al., 2012).温度はそれぞれ-0.6(A), -0.4(B), -0.3°C(C).黒矢印頭および黒矢印は,それぞれ単位ステップとその成長方向を示す. (D)-0.3°Cで撮影した α -表面液体相の干渉縞像 (A-Cとは実験が異なる).動画は論文 (Sazaki et al., 2012)の Movie S1.



図 9:温度の上昇に伴う,氷結晶ベーサル面上での薄い液状の層(β-表面液体相:赤矢印 頭)の生成(Sazaki et al., 2012).温度はそれぞれ-0.2(A),-0.1°C(B-D).画像B-Dは温度を-0.1°Cにセットした後,それぞれ0,18,239秒後に撮影された.その他の 矢印頭や矢印は図 8 と同じである.動画は論文(Sazaki et al., 2012)の Movie S2.

ステップよりもはるかに厚いことがわかる.我々は光干 渉法により,この薄い層状の物体の高さも測定しようと したが,検出限界以下であった.このことより,薄い層 状の物体の厚みは数10 nm 以下であることがわかる.

 α -表面液体相と薄い層状の物体の出現温度は、実験 のランに応じてそれぞれ-1.5~-0.4℃および-1.0 ~-0.1℃の範囲で変化した.しかし、同じランでは常 に、薄い層状の物体は α -表面液体相よりも高い温度で 出現した.

薄い層状の物体は氷結晶表面とは極めて異なる様相を 示した.図10に示した様に,薄い層状の物体は,正に 水滴の様に氷結晶表面を動き回り合体した.温度の上昇 に伴う薄い層状の物体の数の減少は,オストワルド熟成 ではなく合体によった.薄い層状の物体のこのような動 的な動きと合体は,薄い層状の物体が明らかに「流動 性」を持つことを示す.そのため,薄い層状の物体は固 相(氷)ではなく,0°C以下で生成する液相であること が強く示唆される.そのため,我々は薄い層状の物体を β -表面液体相と名付けた.

β-表面液体相が確かに固相ではなく液相である事を 証明するために、我々はさらに以下の観察実験を行っ た.図11 Aでは、 α -表面液体相が画面の中央に、そし て β -表面液体相が α -表面液体相の周囲に存在してい る、裸の氷結晶表面では単位ステップが黒矢印の方向に 成長する様子が観察される.しかし,図11 Aの画像の ゲインとオフセットをさらに極端に調整すると,図11 Bに示した様に, β -表面液体相の下側の単位ステップ を可視化できた(黒矢印頭).さらに,図11 BとCに示 した様に, β -表面液体相の下で単位ステップが成長す る様子を観察できた(図中の黒矢印頭は同じステップを 示す).

これらの結果を説明するには、図11Dに示した2通 りの場合が考えられる.1つ目は、β-表面液体相を透 過して,その下に存在する単位ステップを直接可視化で きた場合である.この場合には、β-表面液体相と固体 の氷は異なる屈折率を持たねばならない. そのため、 β-表面液体相は、固相ではなく、0°C以下で生成する 擬似液体層であるとわかる.2つ目は、単位ステップ自 身を直接観察することは出来なかったが、単位ステップ の移動に伴う β-表面液体相の変形が観察できた場合で ある.この場合には、厚みがわずか0.37 nm しかない 単位ステップの横方向の移動に伴い, β-表面液体相は 容易に変形する必要がある.そのような容易に変形しう る層は固相ではなく液相であろう.図10で示した β-表 面液体相の流動性も、この結論を支持する.以上より、 どちらの場合であっても、図11Eに模式的に示した様 に、氷結晶表面上で2種類の表面液体相(αとβ)の生 成を観察することが出来たと結論できる.



図 10: -0.5° Cにおける薄い液状の層 (β -表面液体相)の合体 (Sazaki et al., 2012).画像A-Dは温度を -0.5° Cにセットした後、それぞれ 72、263、547、808 秒後に撮影された. 白矢印頭および赤矢印頭はそれぞれ α -、 β -表面液体相を示す. β -表面液体相は、正に液滴の様に、ベーサル面上を動き回り、合体を繰り返し、最後には1つになった.

エルバウムらは,擬似液体層の厚みと氷結晶表面ので こぼこを,それぞれ偏光解析法および干渉光学顕微法に より評価した(Elbaum et al., 1993).その結果に基づ き,彼らは,温度の増加とともに,氷結晶ベーサル面上 ではまず擬似液体層が均一に生成し,その厚みが20 nm よりも大きくなると,液滴が生成すると結論づけてい る.このエルバウムらの描像は本研究で得られたものと は全く異なる.彼らの場合には,用いた光学顕微鏡の高 さ方向の検出分解能が十分ではなかったため, α -およ び β -表面液体相が不均一に生成する初期過程を観察で きなかったのであろう.

我々はさらに、2つの表面液体相の安定性について調 べた. α -および β -表面液体相がまず-0.5°Cで生成し ていることを確認した後、温度を-1.0°Cまで下げ、応 答を観察した.図12はその結果を示す.時間が経つと ともに、 β -表面液体相は分解し、 α -表面液体相(画像 D中の小さな液滴で、白矢印頭で示されている)および バンチング(束化した)ステップへと変化した.バンチ ングステップ(黒矢印頭)の生成は、たくさんの単位ス テップが同時に生成したことを示す(図12 Cの挿入



図11: -1.0° Cにおける,薄い液状の層(β -表面液体相)の下で成長する単位ステップの可視化(Sazaki et al., 2012). 画像Aのゲインとオフセットをさらに極端に調整する事で 画像Bを得た. 画像Cは画像Bの3.27秒後に撮影された. (D) β -表面液体相の下で成長 する単位ステップを可視化するにあたり,本文中で議論される2つの可能性(赤矢印)の 模式図(断面図). (E)2種類の表面液体相($\alpha \ge \beta$)の模式図. その他の矢印頭や矢印 は図8,9と同じである. 動画は論文(Sazaki et al., 2012)の Movie S3.

図). これらの結果は、 β -表面液体相は最も自由エネル ギーが高い相であり、最も高温にしないと生成しないこ とを示す. 一方、 α -表面液体相の自由エネルギーはよ り低いために、より安定な相であり、Ih 氷が最も自由 エネルギーが低い、最安定相であることを示す. 画像D の中央に示されている、 α -表面液体相の大きさが元に 比べて小さくなっていることは、 α -表面液体相も部分 的に分解し、最も安定な氷へと変化したことを示す.

以上に示した様に,結晶表面上の分子・原子レベルの 段差を可視化できる光学顕微鏡を開発する事で,氷結晶 表面上では0℃以下の温度で,2種類の異なる表面液体 相(α と β)が生成する事が明らかとなった.これまで は,氷結晶表面上では1種類の表面液体相(擬似液体 層)が均一に生成すると考えられ,静的な描像でしか議 論されてこなかった.しかし,実際には表面液体相は2 種類存在し,その生成は極めて不均一かつ動的であるこ とがわかった.本稿で紹介した表面融解に関する新たな 知見は,スケートリンクの滑りやすさから雷雲での電気 の発生まで(Li and Somorjai, 2007; Petrenko and Whitworth, 1999; Wettlaufer and Dash, 2000),擬似液 体層が重要な役割を果たすと考えられる様々な現象を理 解するために,今後,重要な役割を果たすと期待され る.

5. 今後の展望

結晶表面の単位ステップを光学顕微観察する際の「見 え具合」を定量的に評価することは難しい.しかし,反 射型の光学顕微法の場合には,ステップの高さ(光の位 相差に相当)と結晶表面の反射率(SN比と位相差の両 方に相当)がその指標となろう.レーザー共焦点微分干 渉顕微鏡を開発し,その性能をさらに向上させること で,反射率が1.8%の空気-氷界面で,厚みが0.37 nm の単位ステップを,その成長・昇華の最中にその場観察 できる様になった.著者自身は今後さらに,反射率が 0.007%しかない水-氷界面での,分子レベルのその場観 察を目指している.融液と結晶との界面では,未だ誰も 分子レベルでのその場観察に成功していない.そのため



図 12: 温度の低下に伴う,薄い液状の層 (β -表面液体相)の分解と,丸い液滴 (α -表面液体相)および氷結晶の生成 (Sazaki et al., 2012). -0.5° Cにおいて α -および β -表面液体相の生成を確認した後,温度を -1.0° Cに低下させた. 画像A – Dは温度を -1.0° Cに セットした後,それぞれ0,20,23,49秒後に撮影された. 黒矢印頭および黒矢印はそ れぞれ,バンチング (束化した)ステップ (Cの挿入図参照:断面の模式図)およびその 成長方向を示す.その他の矢印頭や矢印は図8,9と同じである.動画は論文 (Sazaki et al., 2012)の Movie S4.

もし観察に成功すれば,界面での新たな物理現象を見出 せるかもしれないと期待している.そのためには,気相 からの成長に比べて何桁も速い融液相からの成長を,い かに制御してスローダウンできるかが重要なポイントに なるであろう.また,レーザーをスキャンするために比 較的遅い観察手法である LCM-DIM よりも,より高速 なイメージングを可能にする光学顕微法の開発も重要で ある.恐らく,位相差顕微法がその候補として最有力で あろう.位相差顕微法のさらなる高感度化にも今後取り 組みたい.

謝辞

株式会社オリンパスエンジニアリングの斎藤良治氏と 小林茂氏には様々な技術的援助をいただいた.また,愛 知学院大学の清忠師教授と産業技術総合研究所の灘浩樹 博士には様々な議論をしていただいた.ここに深く感謝 する.本研究は科学技術振興機構によるさきがけ研究 (2008 年 10 月~2012 年 3 月)として行われた.

文献

- Beaglehole, D., D. Nason (1980) Transition layer on the surface on ice. *Surface Science*, 96, 357-363.
- Bluhm, H., D. F. Ogletree, C. S. Fadley, Z. Hussain, N. Salmeron (2002) The premelting of ice studied with photoelectron spectroscopy. *Journal of Physics-Condensed Matter*, 14, L227–L233.
- Bluhm, H., M. Salmeron (1999) Growth of nanometer thin ice films from water vapor studied using scanning polarization force microscopy. *Journal of Chemical Physics*, 111, 6947–6954.
- Chernov, A. A. (1984) *Modern crystallography III.* ed.; Springer-Verlag, Berlin.
- Doppenschmidt, A., H. J. Butt (2000) Measuring the thickness of the liquid-like layer on ice surfaces with atomic force microscopy. *Langmuir*, **16**, 6709–6714.
- Dosch, H., A. Lied, J. H. Bilgram (1995) Glancing-angle X-ray scattering studies of the premelting of ice surfaces. *Surface Science*, **327**, 145-164.
- Dosch, H., A. Lied, J. H. Bilgram (1996) Disruption of the hydrogen-bonding network at the surface of I-h ice near surface premelting. *Surface Science*, **366**, 43–50.
- Elbaum, M., S. G. Lipson, J. G. Dash (1993) Optical study of surface melting on ice. *Journal of Crystal Growth*, 129, 491-505.
- Faraday, M. Lecture given at Royal Institution, June 7, 1850; London, 1850; p 640.
- Frenken, J. W. M., P. M. J. Maree, J. F. Vanderveen (1986) Observation of surface-initiated melting. *Physical Review B*, 34, 7506–7516.
- Furukawa, Y., M. Yamamoto, T. Kuroda (1987) Ellipsometric study of the transition layer on the surface of

an ice crystal. Journal of Crystal Growth, 82, 665-677.

- Golecki, I., C. Jaccard (1977) The surface of ice near 0°C studied by 100 keV proton channeling. *Phys. Lett.*, **63A**, 374-376.
- Golecki, I., C. Jaccard (1978) J. Phys. C: Solid State Phys., 11, 4229.
- Gonda, T., T. Arai, T. Sei (1999) Experimental study on the melting process of ice crystals just below the melting point. *Polar Meteorol. Glaciol.*, **13**, 38-42.
- Hobbs, P. V. (1974) *Ice physics*. ed.; Clarendon Press, Oxford. p 18-44.
- Kaverin, A., V. Tsionsky, D. Zagidulin, L. Daikhin, E. Alengoz, E. Gileadi (2004) A novel approach for direct measurement of the thickness of the liquid-like layer at the ice/solid interface. *Journal of Physical Chemistry B*, 108, 8759–8762.
- Kouchi, A., Y. Furukawa, T. Kuroda (1987) X-ray diffraction pattern of quasi-liquid layer on ice crystal surface. *Journal De Physique*, 48, 675–677.
- Kuroda, T., R. Lacmann (1982) Growth kinetics of ice from the vapor phase and its growth forms. *Journal of Crystal Growth*, 56, 189–205.
- Kvlividze, V. I., V. F. Kiselev, A. B. Kurzaev, L. A. Ushakova (1974) The mobile water phase on ice surfaces. *Surf. Sci.*, 44, 60–68.
- Li, Y., G. A. Somorjai (2007) Surface premelting of ice. Journal of Physical Chemistry C, 111, 9631-9637.
- Lied, A., H. Dosch, J. H. Bilgram (1994) Surface melting of ice I(h) single crystals revealed by glancing angle X-ray scattering. *Physical Review Letters*, **72**, 3554–3557.
- Markov, I. V. (1995) *Crystal growth for beginners.* ed.; World Scientific, Singapore.
- Maruyama, M., M. Bienfait, J. G. Dash, G. Coddens (1992) Interfacial melting of ice in graphite and talc powders. *Journal of Crystal Growth*, **118**, 33-40.
- Mizuno, Y., N. Hanafusa (1987) Studies of Surface Properties of Ice Using Nuclear Magnetic Resonance. *Jour*nal de Physique C1, 3, 511–517.
- Nasson, D., N. H. Fletcher (1975) Photoemission from ice and water surfaces: Quasiliquid layer effect. J. Chem. Phys., 62, 4444-4449.
- Petrenko, V. F., R. W. Whitworth (1999) *Physics of ice.* ed.; Oxford University Press, Oxford.
- Pluis, B., A. W. D. Vandergon, J. W. M. Frenken, J. F. Vanderveen (1987) Crystal-face dependence of surface melting. *Physical Review Letters*, **59**, 2678–2681.
- Sadtchenko, V., G. E. Ewing (2003) A new approach to the study of interfacial melting of ice: infrared spectroscopy. *Canadian Journal of Physics*, **81**, 333-341.
- Salmeron, M., H. Bluhm (1999) Structure and properties of ice and water film interfaces in equilibrium with vapor. *Surface Review and Letters*, 6, 1275-1281.
- Sazaki, G., T. Matsui, K. Tsukamoto, N. Usami, T. Ujihara, K. Fujiwara, K. Nakajima (2004) In situ observation of elementary growth steps on the surface of protein crystals by laser confocal microscopy. *Journal of Crystal Growth*, 262, 536–542.

- Sazaki, G., S. Zepeda, S. Nakatsubo, M. Yokomine, Y. Furukawa (2012) Quasi-liquid layers on ice crystal surfaces are made up of two different phases. *Proceedings* of the National Academy of Sciences of the United States of America, 109, 1052–1055.
- Sazaki, G., S. Zepeda, S. Nakatsubo, E. Yokoyama, Y. Furukawa (2010) Elementary steps at the surface of ice crystals visualized by advanced optical microscopy. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the* United States of America, 107, 19702–19707.
- Suzuki, Y., G. Sazaki, M. Matsumoto, M. Nagasawa, K. Nakajima, K. Tamura (2009) First Direct Observation of Elementary Steps on the Surfaces of Glucose Isomerase

Crystals under High Pressure. *Crystal Growth & Design*, **9**, 4289-4295.

- Wen, R., A. Lahiri, M. Azhagurajan, S. Kobayashi, K. Itaya (2010) A New in Situ Optical Microscope with Single Atomic Layer Resolution for Observation of Electrochemical Dissolution of Au(111). *Journal of the American Chemical Society*, **132**, 13657–13659.
- Wettlaufer, J. S., J. G. Dash (2000) Melting below zero. Scientific American, 282, 50-53.
- Zepeda, S. (2004) An atomic force microscopy study of antifreeze glycoproteins and ice. *Ph.D. thesis, University* of *California Davis*.

レーザー捕捉法を用いた 単一過冷却水滴の凍結過程の直接観測

石坂 昌司^{1),2)*},山内 邦裕³⁾,喜多村 曻³⁾

2012年9月17日受付, 2012年12月20日受理

エアロゾル微小水滴は、気候や大気環境などの分野において極めて重要な役割を果たしている. レーザー捕捉法は、マイクロメートルサイズの単一微小水滴を非接触で気相中に浮遊させることが出 来るため、エアロゾル微粒子系に関する強力な研究手段である.本稿では、レーザー捕捉・顕微ラマ ン分光法による、微小水滴の化学組成とサイズ測定に関する研究、ならびに過冷却微小水滴の凝固の 直接観測に関する研究について紹介する.

In situ observation of freezing processes of single supercooled water droplets using a laser trapping technique

Shoji Ishizaka^{1,2*}, Kunihiro Yamauchi³, Noboru Kitamura³

In this paper, *in situ* characterization of the chemical composition and size of an aerosol water droplet is demonstrated by means of laser trapping and Raman spectroscopy. Furthermore, the laser trapping technique is applied to direct observation of freezing processes of single micrometer-sized water droplets in air.

1. はじめに

大気中における雲の発生や成長に関わる微小水滴の物 理化学現象には未解明の問題が数多く残されており,気 候変動に関する議論において,雲の影響は最大の不確定 要素の一つとみなされている¹⁾.気相中における水滴の 発生頻度や成長速度は,水滴の化学組成や粒径に大きく 依存する.したがって,エアロゾル水滴の物理・化学的 性状の本質を理解するためには,気相中に水滴を非接触 で静止させるとともに,粒径ごとにその物性や化学組成 を計測する分析技術が必要不可欠である.これまでに, 超音波浮揚^{2)~4)}や磁気浮上⁵⁾,静電トラップ^{6)~9)},レー ザー捕捉¹⁰⁾などの実験手法が,単一エアロゾル液滴の 実験に用いられてきた.超音波浮揚と磁気浮上は,ミリ メートルからサブミリメートルサイズの液滴を気相中に 浮遊させる手法であるが,自然界における雲粒(直径 ~10 μ m)とは液滴の粒径が大きく異なるため,雲のモ

1)	広島大学大学院理学研究科化学専攻					
	(〒739-8526	広島県東広島市鏡山1-3-1)				

- 2) 科学技術振興機構 さきがけ
- 3) 北海道大学大学院総合化学院
- ¹ Department of Chemistry, Graduate School of Science, Hiroshima University 1–3-1, Kagamiyama, Higashi-Hiroshima, Hiroshima 739–8526, Japan
- ² Japan Science and Technology Agency, PRESTO, 4-

デル実験系に用いるには不適当である.一方,静電ト ラップは、電極で取り囲まれた空間に表面を帯電させた 液滴を導入し,マイクロメートルサイズの単一液滴を気 相中に浮遊させることが出来るため、これまでに雲粒の モデル系として盛んに用いられてきた.しかしながら, 静電トラップは帯電した液滴しか浮遊できないことに加 え,表面電荷が液滴の表面自由エネルギー(表面張力) に影響を与える問題が指摘されてきた11)12). 一方, レー ザー捕捉法は光の反射や屈折に起因する放射圧が捕捉力 の源になっている為,帯電していない水滴にも適応可能 であるという大きな特徴を有している.これまでに、 レーザー捕捉法は溶液中の様々なコロイド微粒子の捕 捉・操作法として盛んに用いられてきたが13)14)、気相中 のエアロゾル微粒子系に応用された例は極めて少ないの が現状である10) .気相中に存在するマイクロメートル サイズの微小な水滴は容易に蒸発してしまう為,安定に 保持することが極めて難しい測定対象である.したがっ

* Corresponding Author.

¹⁻⁸ Honcho Kawaguchi, Saitama 332-0012, Japan

³ Department of Chemical Sciences and Engineering, Graduate School of Chemical Sciences and Engineering, Hokkaido University, Kita-ku, Sapporo 060-0810, Japan

E-mail: ishizaka@hiroshima-u.ac.jp Tel & Fax: 082-424-7425

て、単一エアロゾル液滴のレーザー捕捉は、1975年に A. Ashkin が初めて成功して以来、これまでに筆者らを 含め数グループが成功しているのみである^{15)~27)}. 我々 は、気相の温度と湿度を制御可能なレーザー捕捉・顕微 分光システムを構築し、雲の発生や降雨・降雪に関わる エアロゾル水滴の物理・化学過程を光学顕微鏡下で人工 的に再現するとともに、これを単一水滴レベルで分光計 測可能な基盤技術の確立を目指している.

雲を構成する微小な水滴は、零度以下の温度でも容易 に凍結せず液体状態(過冷却)を保持する.雲中で過冷 却水滴が凝固すると,氷の蒸気圧は水の蒸気圧よりも低 いため、氷晶は周囲の水滴から水分を奪うことにより結 晶が大きく成長し,重力による落下と融解を経て雨とな る (図1)28). したがって, 過冷却水滴の凝固メカニズ ムの詳細を明らかにすることは、降雨・降雪の初期過程 を理解するうえで大変重要である.しかしながら、微小 な過冷却水滴は,固体表面に接すると直ちに凍ってしま うため安定に保持することが極めて難しく、凝固温度を 正確に決定することは困難である. これまでに用いられ てきた実験手法は、冷却したチャンバー内に水滴を落下 させ、落下中に水滴を凍結させるものである(図2). 例えば、この実験手法を用いて決定された硫酸アンモニ ウム(30 wt%)を含む過冷却水滴の凝固温度は,-45 ~-60°Cの間でさまざまな文献値が報告されており、今 日でも正確な凝固温度は見積もられていない29). 冷却 チャンバー内に水滴を落下させる実験手法では、水滴そ のものの温度を評価していないことに加え、水滴の蒸発 に伴う溶質濃度変化が考慮されていないことが、実験結 果のばらつきの主な原因であると推測される.我々は, レーザー捕捉法を用いて水滴を空中の一点に非接触で静 止させ、これを徐々に冷却することにより過冷却水滴の 凝固を厳密に観測することを着想した(図2).本稿で は、レーザー捕捉・顕微ラマン分光法による単一水滴の 化学組成と水滴サイズの計測と,降雨・降雪の初期過程 である過冷却微小水滴の凍結過程の直接観測への応用に

ついて報告する.

2. レーザー捕捉法の原理と実験装置

レーザー捕捉法は,光の放射圧を用いて様々な微粒子 を非接触で捕捉・操作することが可能であるため,「光 ピンセット」とも呼ばれる実験手法である.光は,反射 や屈折により進行方向が変化した際に放射圧と呼ばれる 力を発生する³⁰⁾.対物レンズを通してレーザー光を水滴 に集光した場合,レーザー光が水滴の表面で反射するこ とにより生じる放射圧は散乱力(scattering force)と よばれ,水滴を光の進行方向に押す力として働く(図 3).一方,水滴表面でレーザー光が屈折することに よって生じる放射圧は勾配力(gradient force)とよば れ,水滴をレーザー光の焦点位置へ引き込む力として働 く.図3に示すように,水滴の下方からレーザー光を集 光し,水滴に働く重力と光の散乱力のバランスを取るこ



図1:降雨・降雪のメカニズム. Fig.1: Freezing of supercooled water droplets and subsequent ice crystals growth in a cloud.



図2:過冷却微小水滴の凝固に関する従来の実験手法との比較. Fig.2:Experimental approaches to study phase transition of supercooled water droplets in air.

とにより,微小水滴を空気中に浮遊させることが出来る.

図4に,筆者らが構築したレーザー捕捉顕微分光シス テムの模式図を示す. 超音波式ネブライザーを用いて 様々な溶質(塩化ナトリウム,硫酸アンモニウムなど) を含むエアロゾル微小水滴を発生させ、倒立型光学顕微 鏡のステージ上に設置したチャンバー内に導入する. レーザー捕捉光として CW-Nd:YVO4 レーザー光 (532 nm)を対物レンズ(60倍, N.A.=0.70)を用いてチャ ンバー内に集光し、微小水滴の一つを気相中において捕 捉する.なお、このレーザー捕捉光はラマン励起光源と しての役割も兼ねており,捕捉した水滴から発せられる 散乱光を同一対物レンズで集光し,捕捉光(532 nm) の散乱を光学フィルターで除去し, EMCCD 光検出器 を用いて検出することにより、単一微小水滴のラマン分 光計測が可能である.チャンバー内の温度は,恒温水循 環装置(25°C)もしくは液体窒素(室温~-100°C)を 用いて制御し,湿度はマスフローコントローラーを用い て湿潤空気と乾燥空気を任意の割合で混合し、チャン バー内へ供給することで制御するシステムを構築した.



図3:エアロゾル微小水滴のレーザー捕捉. Fig.3: Principle of laser trapping of a water droplet in air. レーザー光のパワーを適切に調整し,水滴に働く重力と 光の散乱力のバランスを取ることにより,微小水滴を空 気中に非接触で浮遊させることに成功した(図5)²⁶⁾. 一般に,放射圧は10⁻¹⁰ ニュートン程度の力であり,本 システムを用いて,雲粒の大きさに相当する直径2~30 µm 程度の微小水滴を重力に逆らって気相中に浮遊さ せ,空中の一点に非接触で静止させることが出来る.ま た,様々な分光計測法との組み合わせも容易であり,雲 の発生や降雨・降雪に関わるエアロゾル水滴の物性なら びに化学的組成を単一微粒子レベルで解明する強力な分 析手段になり得ることが期待される.以下に,単一エア ロゾル水滴のレーザー捕捉・顕微分光法の研究例とその 特徴について紹介する.



図5:気相中においてレーザー捕捉された水滴の顕微鏡像. Fig.5: Single micrometer-sized water droplet levitated in air by means of laser trapping technique.



図4:レーザー捕捉・顕微分光システムの模式図. Fig 4: Schematic illustration of a logar transing and apo

Fig.4 : Schematic illustration of a laser trapping and spectroscopy system.

単一エアロゾル水滴のラマンスペクトルによる溶質濃度の見積もり

マイクロメートルサイズの過冷却微小水滴の凝固温度 は,溶質濃度や粒径に大きく依存する.しかしながら, エアロゾル水滴中に含まれる溶質濃度は水滴の発生に用 いた母液の溶質濃度と必ずしも一致しない.したがっ て,過冷却微小水滴の凝固温度の溶質濃度依存性を理解 するためには,単一水滴ごとにその化学組成を計測する ことが必要不可欠である.レーザー捕捉・顕微ラマン分 光法を用いて,単一エアロゾル水滴のラマンスペクトル を計測することにより,水滴個々の溶質濃度を見積もる ことができる.

図 6 (a)に, 硫酸アンモニウムを含む単一エアロゾル微 小水滴(直径 ~11 µm)のラマンスペクトルを示す. 980 cm⁻¹付近に硫酸イオンの対称伸縮振動に帰属され る鋭いピークが、3420 cm⁻¹ 付近に水の OH 伸縮振動に 帰属されるブロードなピークが観測された.溶媒である 水のラマン散乱強度に対する溶質分子である硫酸イオン のラマン散乱強度の比(I980/I3420)は,硫酸アンモニウ ム濃度に対して良好な直線関係を示す.したがって、単 一微小水滴中の硫酸アンモニウム濃度を I980/I3420 から 見積もることが出来る.図6(a)のラマンスペクトルから 見積もられる水滴の硫酸アンモニウム濃度は0.62 M で ある.一方,超音波式ネブライザーに導入した母液の硫 酸アンモニウム濃度は0.10 M である(図6(b)).この 様に、水滴の発生に用いた母液の溶質濃度と、実際にエ アロゾル水滴中に含まれる溶質濃度は大きく異なる.気 相中に存在する微小な水滴は、周りを取り巻く空気の相 対湿度や温度のみならず、水滴そのものの曲率半径を鋭 敏に反映し速やかに蒸発・凝縮する. つまり、エアロゾ ル水滴に含まれる溶質濃度はチャンバー内の相対湿度に 依存し,発生に用いる母液濃度には寄らないこと,ま た,同一湿度条件下であっても水滴サイズが異なれば含 まれる溶質濃度は異なることを意味する.したがって、 エアロゾル水滴の溶質濃度依存性に関する研究を行う際 には、レーザー捕捉した水滴そのものの濃度をその場で 直接計測することが極めて重要である.

4. エアロゾル微小水滴の光閉じ込め効果

レーザー捕捉法を用いてマイクロメートルサイズの微 小液滴を気相中に非接触で静止させると、液滴は表面張 力によりほぼ真球の形状を取る.水の屈折率(1.3)は 周りを取り巻く空気の屈折率(1.0)より大きいため、 水滴内部で発した光が気/液界面において全反射を繰り 返し、光は水滴内を周回し閉じ込められる(図7).水 滴内を光が周回した際に、一周の長さが光の波長の整数 倍の条件を満たすと、光の位相が揃って強く共振する. したがって、気相中の単一水滴を分光計測した場合、あ



Raman Shift / cm⁻¹

図6:硫酸アンモニウム水溶液のラマンスペクトル(a)微小水 滴(b)バルク硫酸アンモニウム水溶液0.10 M.

Fig.6: Raman spectra of a water droplet containing ammonium sulfate (a) and bulk aqueous ammonium sulfate (0.10 M) solution (b).



図7: 微小水滴の光閉じ込めに基づく Whispering gallery mode (WGM) 共鳴. Fig.7: Amplification of Raman scattering light by whispering gallery mode (WGM) resonances.

る特定の波長の光が強く増強されて鋭いピークがほぼ等 間隔に観測されるという分光学的な特徴を有している. この共振モードは Whispering Gallery Mode (WGM) と呼ばれる.

図8に、気相中においてレーザー捕捉した単一微小水 滴の円周部分に対物レンズの焦点を合わせて測定した場 合のラマンスペクトルを示す.水のOH 伸縮振動領域 (2800~4000 cm⁻¹) に鋭いピークがほぼ等間隔に観測さ れる.WGM は水滴の屈折率と直径を鋭敏に反映する ため、ピークの位置と間隔を解析すると、水滴直径 (d) をナノメートルオーダーの精度で見積もることが 出来る²⁶⁾. 例えば, 図8のWGMをミー散乱の理論に 基づきを解析すると、d=10.694 µm と極めて正確に水 滴サイズを決定することが出来る.また,微小水滴内で 全反射した光は、液滴の円周部分を周回することから、 WGM 共鳴は本質的に液滴表面から数マイクロメート ルの空間領域おける情報を選択的に反映することにな る.実際には、全反射した際に光がわずかに界面から浸 み出すために,光の強度は徐々に減衰する.微小液滴の 光閉じ込め効率(Q値)は,媒質間の屈折率差と球体の 形状に依存する.例えば,空気中に存在する直径10 μmの真球の水滴を仮定すると、光は水滴内部を 10⁵ 周



図8:単一エアロゾル水滴(直径10.694 µm)のラマンスペ クトルにおける WGM.

Fig.8 : Cavity enhanced Raman spectrum of a single aerosol water droplet with diameter 10.694 μ m.

回すると予想され,これは直線距離に換算すると約7mの光路長に相当する³¹⁾.つまり,WGMの位置や間隔は 水滴サイズや屈折率の極わずかな変化を鋭敏に反映し変 化することになる.したがって,エアロゾル微小液滴の 光閉じ込め効果に基づく,界面吸着化学種の高感度検出 への応用が期待される.

5. 単一過冷却水滴の凍結過程の直接観測

微小水滴をレーザー捕捉法を用いて空気中に非接触で 浮遊させ固体表面との接触を排除すると、ビーカーやフ ラスコを用いた実験では実現不可能な熱力学的準安定状 態(過冷却・過飽和)の水滴を安定に保持することがで きる.筆者らは、レーザー捕捉法を用いて硫酸アンモニ ウムを含む微小水滴を空中の一点に非接触で静止させ, 水滴を冷却することによって, −60°C付近で過冷却微小 水滴が凝固する様子をリアルタイムで観測することに成 功した(図9)²⁷⁾.水滴に一瞬影が走り(図9(B)),表面 に凹凸のあるゴルフボール状の微粒子に変化する様子が 捉えられた(図9(C)).この微粒子が氷であるのかどう かを確認するため、 ラマンスペクトルを測定したとこ ろ,バルクの氷と同様に 3150 cm⁻¹ にピークが存在した ことから,過冷却水滴が凝固し氷晶を形成したことが確 認できた.また、その後に氷晶が成長し雪の結晶のよう な形態へと変化する様子も観測出来た(図10).以上の 結果から、上空の雲の中で起こっている過冷却水滴の凝 固と,その後の結晶成長のモデル系を,レーザー捕捉法 を用いて光学顕微鏡下で再現し観測することが可能であ る. 雲中の水滴には様々な溶質(塩化ナトリウム,硫酸 アンモニウムなど)が溶解しており、これらの溶質濃度 が過冷却水滴の相転移温度に影響を与えることが知られ ている^{32)~36)}.前述のように、レーザー捕捉・顕微ラマ ン分光法を用いれば,溶質濃度ならびに水滴サイズを水 滴ごとに厳密に計測することが可能である.現在,過冷 却微小水滴の相転移温度を溶質濃度の関数として明らか にすべく研究を展開している.また,過冷却水滴の相転 移温度は水滴直径に依存するはずであり、現在盛んに議 論がなされているが明確な答えが得られていない^{37/~41)}.



図 9: 気相中における過冷却微小水滴の凝固($[NH_4]_2SO_4=3.5$ M, 213 K), *Chem. Phys. Lett.*, 506, 117–121 (2011)²⁷⁾ より許可を得て転載. Fig.9: Sequential video images showing freezing processes of a micrometer-sized aqueous ammonium sulfate droplet ($[(NH_4)_2SO_4 = 3.5 \text{ M}]$) in air at 213 K.



図 10:気相中におけるレーザー捕捉した氷結晶の成長, Chem. Phys. Lett., 506, 117-121 (2011)²⁷⁾より許可を得て転載.

Fig.10: Growth of ice crystals in air 0 (A), 3 (B), 5 (C), 8 (D), 12 (E) and 15 min. (F) after freezing of a supercooled water droplet.

レーザー捕捉法を駆使して,過冷却微小水滴の凝固温度 の水滴サイズ依存性を実験的に明らかにすることが出来 れば,氷の均一核発生に関する重要な知見を与えること ができるものと期待される.

6. おわりに

気候変動に関する政府間パネル(Intergovernmental Panel on Climate Change: IPCC) は, 2100 年までの 地球温暖化の見通しを報告している. 2007年に報告さ れた IPCC 第4次レポートには,『将来の気候予測にお ける最大の不確実性は「雲」に起因している』と述べら れている¹⁾. 雲中で起こる物理・化学過程には、未知の 課題が数多く残されているのが現状である.特に,降水 の直接的なきっかけとなる溶質を含む過冷却水滴の相転 移温度の文献値には±15°C以上の幅があり、気候変動の 予測において大きな誤差を招くことは容易に想像され る. 雲は、ミクロな水滴または氷の粒の集合体である. レーザー捕捉法を用いると、大気中に浮遊するミクロな 水滴を非接触で操ることが出来る.より確度の高い気候 変動の予測を実現するためには、研究の基礎となる微小 水滴の捕捉・計測法を確立し、エアロゾル微小水滴の物 理・化学過程の詳細を解明することが必要不可欠であ る.

謝辞

本研究は, JST 戦略的創造研究推進事業さきがけの 一環として行われたものである.

参考文献

- IPCC (2007), "Climate Change 2007, The Physical Science Basis, Contribution of Working Group I to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change", Edited by S. Solomon, D. Qin, M. Manning, Z. Chen, M. Marquis, K. B. Averyt, M. Tignor, H. L. Miller, Chapter 8, (Cambridge University Press, Cambridge and New York).
- 2) Y. J. Lu, W. Xie, B. Wei (2005), Observation of ice nucleation in acoustically levitated water drops, *Appl. Phys. Lett.*, 87, 184107.

- Y. J. Lu, B. Wei (2006), Supercooling of aqueous NaCl and KCl solutions under acoustic levitation, *J. Chem. Phys.*, **125**, 144503.
- 4) S. Bauerecker, P. Ulbig, V. Buch, L. Vrbka, P. Jungwirth (2008), Monitoring ice nucleation in pure and salty water via high-speed imaging and computer simulations, *J. Phys. Chem. C*, **112**, 7631-7636.
- 5) E. Beaugnon, D. Fabregue, D. Billy, J. Nappa, R. Tournier (2001), Dynamics of magnetically levitated droplets, *Physica B*, **294–295**, 715–720.
- 6) D. Duft, T. Leisner (2004), Laboratory evidence for volume-dominated nucleation of ice in supercooled water microdroplets, *Atmos. Chem. Phys.*, 4, 1997–2000.
- 7) B. Kramer, O. Hubner, H. Vortisch, L. Woste, T. Leisner, M. Schwell, E. Ruhl, H. Baumgartel (1999), Homogeneous nucleation rates of supercooled water measured in single levitated microdroplets, *J. Chem. Phys.*, **111**, 6521-6527.
- 8) H. Vortisch, B. Kramer, I. Weidinger, L. Woste, T. Leisner, M. Schwell, H. Baumgartel, E. Ruhl (2000), Homogeneous freezing nucleation rates and crystallization dynamics of single levitated sulfuric acid solution droplets, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **2**, 1407-1413.
- 9) P. Stockel, I. M. Weidinger, H. Baumgartel, T. Leisner (2005), Rates of homogeneous ice nucleation in levitated H₂O and D₂O droplets, *J. Phys. Chem. A*, **109**, 2540–2546.
- K. J. Knox (2011), "Light-Induced Processes in Optically-Tweezed Aerosol Droplets", (Springer -Verlag Berlin Heidelberg).
- I. M. Svishchev, P. G. Kusalik: Electrofreezing of liquid water (1996), A microscopic perspective, J. Am. Chem. Soc., 118, 649-654.
- 12) N. D. Draper, S. F. Bakhoum, A. E. Haddrell, G. R. Agnes (2007), Ion-induced nucleation in solution: Promotion of solute nucleation in charged levitated droplets, *J. Am. Chem. Soc.*, **129**, 11364–11377.
- 13) H. Masuhara, F. C. De Schryver, N. Kitamura, N. Tamai (1994), "Microchemistry, Spectroscopy and Chemistry in Small Domains" (North Holland, Amsterdam).
- 14) N. Kitamura, F. Kitagawa (2003), Optical trapping chemical analysis of single microparticles in solution, *J. Photochem. Photobiol.*, *C*, **4**, 227–247.
- A. Ashkin (1975), Optical Levitation of Liquid Drops by Radiation Pressure, *Science*, 187, 1073–1075.
- 16) N. Magome, M. I. Kohira, E. Hayata, S. Mukai, K. Yoshikawa (2003), Optical trapping of a growing water

droplet in air, J. Phys. Chem. B, 107, 3988-3990.

- 17) R. J. Hopkins, L. Mitchem, A. D. Ward, J. P. Reid (2004), Control and characterisation of a single aerosol droplet in a single-beam gradient-force optical trap, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 6, 4924–4927.
- 18) L. Mitchem, J. P. Reid (2008), Optical manipulation and characterisation of aerosol particles using a singlebeam gradient force optical trap, *Chem. Soc. Rev.*, 37, 756-769.
- 19) K. J. Knox, J. P. Reid (2008), Ultrasensitive Absorption Spectroscopy of Optically-Trapped Aerosol Droplets, J. Phys. Chem. A, 112, 10439–10441.
- 20) M. D. King, K. C. Thompson, A. D. Ward (2004), Laser tweezers Raman study of optically trapped aerosol droplets of Seawater and oleic acid reacting with ozone: Implications for cloud-droplet properties, *J. Am. Chem. Soc.*, **126**, 16710–16711.
- 21) M. Guillon, K. Dholakia, D. McGloin (2008), Optical trapping and spectral analysis of aerosols with a supercontinuum laser source, *Opt. Express*, 16, 7655–7664.
- 22) C. Mund, R. Zellner (2003), Freezing nucleation of levitated single sulfuric acid/H₂O micro-droplets. A combined Raman- and Mie spectroscopic study, *J. Mol. Struct.*, **661**, 491–500.
- 23) C. Mund, R. Zellner (2003), Optical levitation of single microdroplets at temperatures down to 180 K, *Chem-PhysChem*, 4, 630–638.
- 24) C. Mund, R. Zellner (2003), Raman- and Miespectroscopic studies of the cooling behavior of levitated, single sulfuric acid/H₂O microdroplets, *ChemPhys-Chem*, 4, 638-645.
- 25) N. Jordanov, R. Zellner (2006), Investigations of the hygroscopic properties of ammonium sulfate and mixed ammonium sulfate and glutaric acid micro droplets by means of optical levitation and Raman spectroscopy, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 8, 2579–2764.
- 26) S. Ishizaka, Y. Suzuki and N. Kitamura (2010), Laser trapping and picosecond time-resolved spectroscopy of water droplets in air: cavity-enhanced spontaneous emission of Ru(bpy)₃Cl₂, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **12**, 9852– 9857.
- 27) S. Ishizaka, T. Wada and N. Kitamura (2011), In situ observations of freezing processes of single micrometersized aqueous ammonium sulfate droplets in air, *Chem. Phys. Lett.*, **506**, 117-121.
- H. R. Pruppacher, J. D. Klett (1997), "Microphysics of clouds and precipitation", Chapter 16, (Kluwer Aca-

demic Publishers, Dordecht).

- 29) B. H. Larson, B. D. Swanson (2006), Experimental investigation of the homogeneous freezing of aqueous ammonium sulfate droplets, *J. Phys. Chem. A*, **110**, 1907–1916.
- 30) 増原極微変換プロジェクト編(1993), "マイクロ化学, 微小空間の反応を操る",(化学同人).
- 31) R. Symes, R. M. Sayer, J. P. Reid (2004), Cavity enhanced droplet spectroscopy: Principles, perspectives and prospects, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 6, 474-487.
- 32) R. W. Talbot, J. E. Dibb, M. B. Loomis (1998), Influence of vertical transport on free tropospheric aerosols over the central USA in springtime, *Geophys. Res. Lett.*, 25, 1367–1370.
- 33) J. P. D. Abbatt, S. Benz, D. J. Cziczo, Z. Kanji, U. Lohmann, O. Mohler (2006), Solid ammonium sulfate aerosols as ice nuclei: A pathway for cirrus cloud formation, *Science*, **313**, 1770–1773.
- 34) S. T. Martin (1998), Phase transformations of the ternary system (NH₄)₂SO₄-H₂SO₄-H₂O and the implications for cirrus cloud formation, *Geophys. Res. Lett.*, **25**, 1657– 1660.
- 35) A. Tabazadeh (1998), The role of ammoniated aerosols in cirrus cloud nucleation, *Geophys. Res. Lett.*, 25, 1379–1382.
- 36) J. H. Chelf, S. T. Martin (2001), Homogeneous ice nucleation in aqueous ammonium sulfate aerosol particles, J. Geophys. Res., 106, 1215–1226.
- 37) A. Tabazadeh, Y. S. Djikaev, H. Reiss (2002), Surface crystallization of supercooled water in clouds, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **99**, 15873–15878.
- 38) O. F. Sigurbjornsson, R. Signorell (2008), Volume versus surface nucleation in freezing aerosols, *Phys. Rev. E*, 77, 051601.
- 39) Y. S. Djikaev, A. Tabazadeh, P. Hamill, H. Reiss (2002), Thermodynamic conditions for the surfacestimulated crystallization of atmospheric droplets, *J. Phys. Chem. A*, **106**, 10247–10253.
- 40) Y. S. Djikaev (2008), Effect of the surface-stimulated mode on the kinetics of homogeneous crystal nucleation in droplets, *J. Phys. Chem. A*, **112**, 6592–6600.
- 41) D. Duft, T. Leisner (2004), Laboratory evidence for volume-dominated nucleation of ice in supercooled water microdroplets, *Atmos. Chem. Phys.*, 4, 1997–2000.

不凍タンパク質の氷界面吸着に関する 分子動力学シミュレーション研究

灘 浩樹1)

2012年12月28日受付, 2013年1月15日受理

不凍タンパク質による氷の成長抑制は、それらが氷界面へ吸着することにより起こる.しかしなが ら、何故それらが吸着するのかという基本的な点が未だによくわかっていない.本解説では、最近行 われた不凍タンパク質の氷界面吸着に関する分子動力学シミュレーション研究を紹介し、吸着構造の 熱力学的安定性を議論する.

Molecular dynamics simulation studies on the binding of an antifreeze protein to an ice interface

Hiroki Nada¹

Ice growth inhibition by antifreeze proteins occurs when the proteins bind to ice interfaces. However, a fundamental question of why the proteins bind to the interfaces still remains unclear. This review presents recent molecular dynamics simulation studies on the binding of the proteins to the interfaces. We will discuss the thermodynamic stability of the binding conformations of the proteins at the interfaces.

1. はじめに

寒冷圏に生息する魚や昆虫は,氷の結晶成長を抑制す る不凍タンパク質(Anti-Freeze Protein, AFP)を体内 に持っている(Yeh and Feeney, 1996). 植物着生バク テリアは,氷の核生成を促進する氷核タンパク質(Ice-Nucleating Protein, INP)を細胞膜に持っている(Lee Jr. et al., 1997). これらの氷結晶化制御機能を持つタン パク質は,生命科学はもちろん,物理学や結晶成長学な ど幅広い学術分野における研究対象である.

AFPによる氷成長抑制を記述する代表的な理論モデ ルは,AFPの強い氷界面吸着を仮定している(Knight et al., 1991; Kuroda, 1991). INPによる氷核生成促進 は,INPが鋳型として働くことにより起こると考えら れている(Lee Jr. et al., 1997). AFPとINPは互いに 相反する機能を示すものの,構造は類似していると考え られており(Graether et al., 2001),またINPの部分 ポリペプチドはAFPのように氷界面吸着して成長抑制 するとも報告されている(Kobashigawa et al., 2005). 最近の実験研究により,AFPが氷界面吸着している

1) 産業技術総合研究所

¹ National Institute of Advanced Industrial Science and Technology (AIST), Tsukuba, Japan e-mail: hiroki.nada@aist.go.jp ことはかなり確かとなってきた (Pertaya et al., 2008; Zepeda et al., 2008; Celik et al., 2010). また, INP も AFP と同様に氷界面吸着する性質があることがわかっ てきた (Nada et al., 2010). このように, 氷界面吸着 は AFP と INP に共通しており, それらタンパク質に よる氷結晶化制御機構を理解するためのキーとなる性質 である.

しかしながら,それらタンパク質が何故,どの程度安 定に氷界面吸着するのかは未だよくわかっていないた め,それらタンパク質による氷結晶化制御機構の理解も 未だに乏しい.その最大の理由は,氷界面におけるタン パク質挙動や吸着構造を実験的手法により調べることが 困難なことにある.このため,分子動力学法などの分子 間相互作用に基づいた計算機シミュレーションによるア プローチが極めて重要といえる.

本報では、シミュレーションによる研究が進んできて いる AFP の氷界面吸着に絞って解説する. 最近行われ た winter flounder AFP (wfAFP) のミュータント (wfAFP に含まれるアミノ残基の一部が別なアミノ残 基 に 置 換 さ れ た も の, mwfAFP) お よ び spruce budworm AFP (sbwAFP) の氷界面吸着に関する分子動 力学シミュレーション研究を紹介し (Nada and Furukawa, 2008, 2011, 2012), そこで見られた吸着構造や吸着 挙動について述べるとともに、それら AFP の氷界面吸 着の熱力学的安定性について議論する.

2. AFP の構造と氷表面吸着構造

Figure 1a に mwfAFP の構造を示す(Liepinsh et al., 2002). mwfAFP は, wfAFP と同じ α ヘリックス 構造を持つ. wfAFP に見られる等間隔に配置した 4 つ のスレオニン(Thr)が, mwfAFP ではバリン(Val) に置換されている(Yang et al., 1988). どちらの AFP 存在下でも,氷の成長形は {2021} ピラミッド面に覆わ れる(Figure 1b)(Davies and Hew, 1990; Haymet et al., 1999). したがって,どちらもそのピラミッド面に 選択的に吸着する性質があり,同じ機構で氷の成長を抑 制すると考えられる.wfAFP ではなく mwfAFP をシ ミュレーション研究の対象として選択した理由は, mwfAFP の方が詳細な三次元原子配列構造が判ってい たため(Liepinsh et al., 2002),シミュレーションに便 利だったからである.

mwfAFPの理想的なピラミッド表面へのポテンシャ ルエネルギー最小吸着構造を Figure 1b に示す(Nada and Furukawa, 2008). 分子レベルのピラミッド表面構 造には、〈0112〉方向に沿って周期的な凹凸が現れる. その凹凸周期は mwfAFP の Val の配列周期と一致す る. Val が凹部分にはまるように吸着すると, ポテン シャルエネルギー最小となる. wfAFP も同じポテン シャルエネルギー最小吸着構造を示す(Jorov et al., 2004).

Figure 2a に sbwAFP の構造を示す(Graether et al., 2003). sbwAFP は β ヘリックス構造を持つ. sbwAFP をヘリックス軸方向に沿って見ると三角柱形状であり,その一つの柱面部分に Thr が周期的に配列している. sbwAFP 存在下での氷の成長形は, {0001} ベーサル面と {1010} プリズム面によって囲まれた六角板となる(Graether et al., 2000). このことから, sbwAFP はそれらの面に選択的に吸着してそこでの成長を抑制すると考えられている.

Figure 2b に理想的なプリズム表面への sbwAFP の ポテンシャルエネルギー最小吸着構造を示す(Nada and Furukawa, 2011). β ヘリックスが〈1120〉方向に 向き, sbwAFP 柱面の Thr 配列周期とプリズム表面の 水分子配列周期が一致するように吸着すると,ポテン シャルエネルギー最小となる. 同様にして,ベーサル表 面においても, Thr 配列周期と氷表面格子とのマッチ ングが良くなるような吸着構造が安定になると考えられ ている(Graether et al., 2000).

AFP-理想的氷表面構造間のポテンシャルエネル ギー解析は、AFPの氷表面吸着構造のエネルギー的安 定性を検討する上では有効である.しかし実際には、 AFPが *成長している氷の界面 / に吸着することによ り成長抑制が起こる.氷の界面は数分子層程度の厚みを 持ち、そこでは固体から液体へ構造がゆるやかに変わっ



図1:(a) mwfAFPの構造,(b) mwfAFP存在下での氷の成 長形および理想的な {2021} ピラミッド表面へのポテンシャ ルエネルギー最小吸着構造.ポテンシャルエネルギー計算に は,six-site model (Nada and van der Eerden, 2003) と CHARMMm力場 (Neria et al., 1996)を用いた.方法の詳 細は文献を参照されたい (Nada and Furukawa, 2008).赤, 紫,黄,青の大きい球は,それぞれ Val, Lys, Glu, Arg の炭素原子を表す.緑球は,他のアミノ残基(その殆どは Ala)の炭素原子を表す.紫と青の小さな球は,それぞれア ミノ残基の窒素原子,酸素原子を表す.薄い水色の小さな球 と極めて小さな球は,それぞれ水分子の酸素原子と水素原子 を表す.

Fig. 1: (a) a schematic of mwfAFP structure. (b) the shape of a growing ice crystal in the presence of mwfAFP, and the potential energy minimum adsorption conformation of mwfAFP at the ideal {2021} pyramidal plane surface of ice. The potential energy calculation was done using the six-site model (Nada and van der Eerden, 2003) and the CHARMm force field (Neria et al., 1996). Detalis of the potential energy calculation method are given in a paper by Nada and Furukawa (Nada and Furukawa, 2008). Large red, purple, yellow, and blue spheres represent carbon atoms of Val, Lys, Glu, and Arg, respectively. Carbon atoms of other residues are show as large green spheres (most of them are of Ala). For all the residues depicted, small dark purple spheres represent nitrogen atoms and very small spheres represent oxygen atoms. Small and very small bright sky blue spheres represent oxygen and hydrogen atoms of H₂O molecules, respectively.

ており(Karim and Haymet, 1988; Nada and Furukawa, 1995, 2005),理想的な氷表面の構造とは大きく異 なる.したがって,AFPによる氷の成長抑制機構を理 解するためには,成長する氷の界面におけるAFPの吸 着挙動を調べることが重要であり,現状分子動力学シ ミュレーションがその唯一の手段である.

3. 分子動力学シミュレーション

3.1 シミュレーション方法

水分子間に働く相互作用ポテンシャルは six-site

model を用いて計算した (Nada and van der Eerden, 2003). AFP のポテンシャルパラメータは, CHARMm 力場により決定した (Neria et al., 1996). AFP の構造 モデルは,回折実験により決定された原子配列に従って 構築した (Liepinsh et al., 2002; Graether et al., 2003).

シミュレーション系として,氷界面を二つ含む三次元 周期境界直方体セルを用いた.mwfAFPに対しては 8640水分子から成る {2021} ピラミッド界面の系, sbwAFPに対しては9720水分子から成る {1010} プリ ズム界面の系を用いた.各界面にはAFPを一つ置い た.

各分子に対する運動方程式は、時間刻み幅を1フェム ト秒として合計4ナノ秒分解いた.水分子もAFPも剛 体として取り扱った.系の温度と圧力がそれぞれ-10°C,1気圧に保たれるように、分子の運動エネルギー と系の体積を制御した.シミュレーション方法の詳細は 文献を参照されたい(Nada and Furukawa, 2008, 2011).

シミュレーションは、界面における複数のAFP 初期 吸着構造に対して実施した.wfAFP に対しては、理想 的なピラミッド表面におけるポテンシャルエネルギー最 小吸着構造(Figure 1b) およびそれとは異なる三通り の吸着構造を初期界面吸着構造としてシミュレーション を実施した.sbwAFP に対しては、理想的なプリズム 表面におけるポテンシャルエネルギー最小吸着構造 (Figure 2b) およびそれとは異なるもう一通りの吸着構 造を調べた.以下では、ポテンシャルエネルギー最小吸 着構造およびそれとは異なる吸着構造を、それぞれ吸着 構造Aおよび吸着構造Bと呼ぶ.

3.2 シミュレーション結果

Figure 3 に mwfAFP のシミュレーション結果を示 す.初期吸着構造を吸着構造Aとしたシミュレーション では,界面で mwfAFP 周辺に氷が成長しても初期位置 のままで吸着構造を変えずに安定であった(Figure 3a).吸着構造Bに対するシミュレーションにおいて は,もともと吸着構造Aに近い初期吸着構造をとってい た mwfAFP は自発的に吸着構造Aへ変わり,そして界 面に安定吸着した.しかし,吸着構造Aとは大きく異な る初期吸着構造をとっていた mwfAFP は,周辺の氷の 成長とともに初期位置から移動していき,界面に安定吸 着しなかった(Figure 3b).

また,界面に安定吸着した mwfAFP 周辺の氷の成長 において,劇的な成長速度減少が起こった.この成長速 度減少は,mwfAFP による成長抑制に相当したものと 思われる.その減少分は,Gibbs-Thomson効果(また は Kelvin 効果)による成長界面先端での融点降下を仮 定して理論的に予測される値とオーダーは一致すること がわかった.ここで Gibbs-Thomson 効果とは,曲率界



図2: (a) sbwAFPの構造. Thr 配列面のThr 残基位置 (No.5, 7, 21, 23, 36, 37, 51, 53, 70) は左側の絵に赤 い円で示してある. (b)理想的な {1010} プリズム表面へのポ テンシャルエネルギー最小吸着構造 (Nada and Furukawa, 2011). ポテンシャルエネルギー計算には, six-site model (Nada and van der Eerden, 2003) とCHARMMm力場 (Neria et al., 1996) を用いた.青と紫の球は, それぞれ Thr 側鎖先端のメチル基と水酸基を表す.

Fig. 2: (a) schematics of sbwAFP structure. Positions of Thr residues in the sbwAFP's Thr-face (No.5, 7, 21, 23, 36, 37, 51, 53 and 70) are marked by blue circles in the left-hand schematic. (b) the potential energy minimum adsorption conformation of mwfAFP at the ideal $\{10\overline{1}0\}$ prismatic plane surface of ice (Nada and Furukawa, 2011). The potential energy calculation was done using the six-site model (Nada and van der Eerden, 2003) and CHARMm force field (Neria et al., 1996). Large dark blue and purple spheres represent Thr's methyl and hydroxyl groups of the Thr-face, respectively.

面においては成長に伴って界面エネルギー不利が増加 し、成長に必要な駆動力が平坦界面の場合と比べて増加 するため、界面における融点が局所的に下がる効果であ る(Yeh and Feeney, 1996).

Figure 4 に sbwAFP の シミュレーション 結果 を示 す.吸着構造Aを初期吸着構造としたシミュレーション では,mwfAFP の場合と同様に,周辺に氷が成長して も sbwAFP は初期位置のまま吸着構造を変えずに安定 に界面吸着していた (Figure 4a).吸着構造Bに対する シミュレーションでは,周辺に氷が成長するにつれて吸 着構造が変化した.しかし,成長氷に現れたプリズム面 に Thr 配列面が接触する吸着構造となったところで, そのまま安定に吸着した (Figure 4b).そこで観察され た吸着構造は吸着構造Aとは異なるものであり, β へ リックス軸が吸着構造Aのものから表面に沿って 90°回 転したものであった.

結果として、どちらの初期吸着構造に対するシミュ



図3:シミュレーション開始から0.1ナノ秒後および4ナノ 秒後のピラミッド界面付近の mwfAFP 吸着構造および水分 子配列構造.(a)初期吸着構造A,(b)初期吸着構造B.破線 は、シミュレーション開始時の界面位置を表す.氷の水分子 のみを表示している.氷の水分子の定義は、最近接位置に配 位した四個の水分子の各々と水素結合により結ばれていた水 分子とした.

Fig. 3 : The binding conformation of mwfAFP and the structure of H_2O molecular arrangement near the pyramidal interface at 0.1 and 4.0 ns after the beginning of the simulation for mwfAFP's initial position corresponding to (a) the potential energy minimum conformation and (b) one of the eneretically metastable conformations. The dashed lines show the initial positions of the interfaces. Here, ice-like H_2O molecules only are shown. The ice-like H_2O molecules were defined as H_2O molecules that were connected via hydrogen bonds to each of their four nearest neighbors.

レーションにおいても氷の成長抑制に相当する成長速度 減少が起こった.その減少分は,mwfAFPの場合と同 様に,Gibbs-Thomson効果(Yeh and Feeney, 1996) をベースとして理論的に予測される値とオーダーが一致 した.本シミュレーション結果は,氷プリズム成長界面 における sbwAFP の安定吸着構造が,吸着構造A以外 にも存在することを強く示唆するものである.このこと は,sbwAFPの氷への親和性が強いことも示唆してお り,また成長抑制効果が他のAFPに比べて格段に高い ことと関係しているかも知れない.

4. 議論

ここで、シミュレーションで観察された氷成長界面に おける吸着構造の熱力学的安定性を議論する.ピラミッ ド界面に安定吸着した mwfAFP では、疎水性 Val メチ ル基が下地氷に接触し、親水性アミノ残基の多くは水に 接触していた.この吸着構造では、液体水分子によるメ チル基周辺の疎水性水和構造形成がもたらすエントロ ピーロスを避けられ、また親水性アミノ残基は液体水分 子と水素結合をつくるためにエンタルピーが下がる.さ らに、mwfAFP 構造と下地氷の凹凸構造とがマッチす ることにより接触面積が大きくなるため、エンタルピー が下がる.このようにして、シミュレーションで観察さ れた mwfAFP の氷界面吸着構造が熱力学的に安定で あった理由を定性的に説明することができる.



図4:シミュレーション開始から0.1 ナノ秒後および6 ナノ 秒後のプリズム界面付近の sbwAFP 吸着構造および水分子 配列構造.(a)表面安定吸着構造,(b)表面不安定吸着構造.点 線は、シミュレーション開始時の界面位置を表す.破線は、 初期吸着構造Bの sbwAFP が最終的に安定吸着した氷界面. 0.1 ナノ秒間の時間平均座標を使って各分子を表示してい る.

Fig. 4: The binding conformation of sbwAFP and the structure of H_2O molecular arrangement near the prismatic interface at 0.1 and 6.0 ns after the beginning of the simulation for sbwAFP's initial position corresponding to (a) the potential energy minimum conformation and (b) one of the eneretically unstable conformations. The dashed line shows the grown ice's prismatic interface to which sbwAFP with the initial binding conformation B finally, stably bound to. Here, H_2O molecules and sbwAFP were illustrated using the time-averaged coordinates of them for a period of 0.1 ns.

しかし,氷平衡界面に対するシミュレーションも実施 したところ,吸着構造AであってもmwfAFPは界面に 安定吸着しなかった(Nada and Furukawa, 2008).氷 成長界面では,mwfAFP周辺に成長した氷との相互作 用によりエンタルピーが下がる効果が吸着安定化に大き く寄与していたのである.平衡界面に安定吸着しないと いうことは,mwfAFPの氷への吸着は,従来の理論で 仮定されてきたように不可逆的に強いものではなさそう だ(Knight et al., 1991).

sbwAFPの氷成長界面吸着構造の熱力学的安定性に も,mwfASPの場合と同様な説明が成り立つ.下地氷 と接触するThrの側鎖先端にはメチル基だけでなく水 酸基も存在するが,その水酸基の吸着安定化への寄与よ りも疎水性メチル基が氷へ接触することによる寄与の方 が大きいようである(Haymet et al., 1999; Jorov et al. 2004; Nada and Furukawa, 2011).sbwAFPやwfAFP など,氷に接触するアミノ残基がThrであるケースは 多い.Thr水酸基の吸着安定化への寄与については定 性的にも定量的にもまだ十分に理解されているとは言え ず,今後より詳しく調べられるべきである.

sbwAFPは、プリズム界面だけでなくベーサル界面 にも吸着する. Scotter らは、sbwAFP など極めて高い 不凍効果を示す AFP は、ベーサル面へ吸着する性質が あると指摘している(Scotter et al., 2006).本シミュ レーションにおいて、プリズム界面における sbwAFP の安定吸着構造が少なくとも二通り存在することがわ かった.このことは、sbwAFPの氷への親和性が強く、 またその界面安定吸着には下地氷格子構造との厳密な マッチングが必ずしも必要ではないことを意味してお り、sbwAFPがベーサル面など他の面指数の界面へも 安定吸着できることと矛盾しない.Garnhamらは、 sbwAFPのような極めて強い不凍効果を示すAFPが氷 界面に吸着するとき、界面の水分子がAFPと下地氷を 連結するクラスレート状の緩和構造を形成するため、そ れによりAFPがベーサル面を含む複数の面に安定吸着 できると指摘している(Garnham et al., 2011).界面吸 着したAFPと下地氷間の水分子配列構造に焦点をあて た研究も、大いに意味がありそうだ.

本解説で紹介したシミュレーション研究において,界 面に安定吸着した AFP 周辺の氷成長速度減少分が Gibbs-Thomson 効果を仮定して計算される値とオー ダーが一致した.しかし,Gibbs-Thomson 効果により 氷成長抑制を記述する理論モデルにおいて仮定されてき た不可逆的に強い AFP 吸着はシミュレーションでは認 められず,このため成長抑制機構の基本的部分に関して も未だ不確かな点が多い.AFP による成長抑制機構を 解明していくためには,実験研究や理論研究との比較お よび検討を交えながら,より精度の高い大規模シミュ レーション研究を実施していくことが必要であろう.

5. おわりに

本解説では、AFPの氷成長界面吸着に関する最近の 分子動力学シミュレーション研究を紹介し、界面におけ るAFP吸着構造の熱力学的安定性を議論した. wfAFPとsbwAFPに対するシミュレーション結果か ら、AFP疎水基が氷に接触してAFP親水基が水に向 くような吸着構造が自由エネルギー的に安定になること が判ってきた.また、吸着AFPとその周辺に成長する 氷との相互作用も吸着の安定化に重要な役割を果たして いることも判ってきた.

しかし,まだ判らないことも多く残されている.氷な ど無機結晶への生体分子吸着は,生物の耐凍結・避凍結 だけでなくバイオミネラリゼーションや有機/無機ハイ ブリッド結晶材料の合成など,基礎科学から産業応用ま で幅広く関係する極めて重要な現象である.その原理解 明に向けて,理論や実験だけでなく,原子・分子レベル の計算科学シミュレーション法によるアプローチの必要 性が今後より一層増すに違いない.

謝辞

本研究は,文部科学省科学研究費補助金新学術領域研 究「融合マテリアル」(領域番号2206,課題番号 22107004)の支援を受けて実施した.本研究を行うにあたり,北海道大学低温科学研究所古川義純教授, Salvador Zepeda博士には有益な助言をいただいた.本研究で実施したシミュレーションの一部は,東京大学物性研究所スーパーコンピュータ施設を利用した.

参考文献

- Celik, Y., Graham, L. A. Mok. Y.-F., Bar, M., Davies, P. L., and I. Braslavsky (2010) Superheating of ice crystals in antifreeze protein solutions, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S. A*, 107, 5423–5428.
- Davies, P. L., and C. L. Hew (1990) Biochemisty of Fish Antifreeze Proteins, *FASEB J.*, 4, 2460–2468.
- Garnham, C. P., Campbell, R. L., and P. L. Davies (2011) Anchored Clathrate Waters Bind Antifreeze Proteins to Ice, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **108**, 7363–7367.
- Graether, S. P., Kuiper, M. J., Gange, S. M., Walker, V. K., Jia, Z., Sykes, B. D., and P. L. Davies (2000) β-helix Structure and Ice-Binding Properties of a Hyperactive Antifreeze Protein From an Insect, *Nature*, **406**, 325–328.
- Graether, S. P., and Z. Jia (2001) Modeling *Pseudomonas* syringae Ice-Nucleation Protein as a β -helical Protein, *Biophys. J.*, **80**, 1160–1173.
- Graether, S. P., Gagné, S. M., Spyracopoulos, L., Jia, Z., Davis, P. L., and B. D. Sykes (2003) Spruce Budworm Antifreeze Protein: Changes in Structure and Dynamics at Low Temperature, *J. Mol. Biol.*, **327**, 1155-1168.
- Haymet, A. D. J., Ward, L. G., Harding, M. M., and C. A. Knight (1998) Valine Substituted Winter Flounder 'Antifreeze': Preservation of Ice Growth Hysteresis, *FEBS Lett.*, **430**, 301–306.
- Haymet, A. D. J., Ward, L. G., and M. M. Harding (1999) Winter Flounder "Antifreeze" Proteins: Synthesis and Ice Growth Inhibition of Analogues that Probe the Relative Importance of Hydrophobic and Hydrogen-Binding Interactions, J. Am. Chem. Soc., 121, 941–948.
- Jorov, A. Zhorov, B. S., and D. S. C. Yang (2004) Theoretical Study of Interaction of Winter Flounder Antifreeze Protein With Ice, *Protein Sci.*, **13**, 1524-1537.
- Karim, O. A., and A. D. J. Haymet (1988) The Ice/Water Interface: A Molecular Dynamics Simulation Study, J. Chem. Phys., 89, 6889–6896.
- Knight, C. A., Cheng, C. C., and A. L. DeVries (1991) Adsorption of α-helical Antifreeze Peptides on Specific Ice Crystal Surface Planes, *Biophys. J.*, **59**, 409-418.
- Kuroda, T. (1991) in Proc. 4th Topical Conference on Crystal Growth Mechanisms, 1-4.
- Lee Jr., R. E., Warren, G. J., and L. V. Gusta (1997) in *Biological Ice Nucleation and Its Applications*, (APS Press).
- Kobashigawa, Y., Nishimura, Y., Miura, K., Ohgiya, S., Miura, A., and S. Tsuda (2005) A Part of Ice-Nucleation Protein Exhibits the Ice-Binding Ability, *FEBS Lett.*, 579, 1493–1497.

- Liepinsh, E., Otting, G., Harding, M. M., Ward, L. G., Mackay, J. P., and A. D. J. Haymet (2002) Solution Structure of a Hydrophobic Analogue of the Winter Flounder Antifreeze Protein, *Eur. J. Biochem.*, 269, 1259–1266.
- Nada, H, and Y. Furukawa (1995) Anisotropic Properties of Ice/Water Interface: A Molecular Dynamics Study, *Jpn. J. Appl. Phys.*, 34, 583-588.
- Nada, H., and J. P. J. M. van der Eerden (2003) An Intermolecular Potential Model for the Simulation of Ice and Water near the Melting Point: A Six-Site Model of H₂O, *J. Chem. Phys.*, **118**, 7401–7413.
- Nada, H, and Y. Furukawa (2005) Anisotropy in Growth Kinetics at Interfaces between Proton-Disordered Hexagonal Ice and Water: A Molecular Dynamics Study using the Six-Site Model of H₂O, *J. Cryst. Growth.*, 283, 242–256.
- Nada, H., and Y. Furukawa (2008) Growth Inhibition Mechanism of an Ice-Water Interface by a Mutant of Winter Flounder Antifreeze Protein: A Molecular Dynamics Study, J. Phys. Chem. B, 112, 7111-7119.
- Nada, H., Zepeda, S., Miura, H., and Y. Furukawa (2010) Significant Alternations in Anisotropic Ice Growth Rate Induced by the Ice Nucleation-Active Bacteria Xanthomonas Campestris, Chem. Phys. Lett., 498, 101-106.
- Nada, H., and Y. Furukawa (2011) Growth Inhibition at the Ice Prismatic Plane Induced by a Spruce Budworm Antifreeze Protein: A Molecular Dynamics Simulation

Study, Phys. Chem. Chem. Phys. 13, 19936-19942.

- Nada, H, and Y. Furukawa (2012) Antifreeze Proteins: Computer Simulation Studies on the Mechanism of Ice Growth Inhibition, *Polymer J.*, 44, 690–698.
- Neria, E., Fischer, S., and M. Karplus (1996) Simulation of Activation Free Energies in Molecular Systems, J. Chem. Phys., 105, 1902–1921.
- Pertaya, N., Marshall, C. B., Celik, Y., Davies, P. L., and I. Braslavsky (2008) Direct Visualization of Spruce Budworm Antifreeze Protein Interacting with Ice Crystals: Basal Plane Affinity Confers Hyperactivity, *Biophys. J.*, **95**, 333-341.
- Scotter, A. J., Marshall, C. B., Graham, L. A., Gilbert, J. A., Garnham, C. P., and P. L. Davies (2006) The Basis for Hyperactivity of Antifreeze Proteins, *Cryobiology*, 53, 229-239.
- Yang, D. S. C., Sax, M., Chakrabartty, A., and C. L. Hew (1988) Crystal Structure of an Antifreeze Polypeptide and Its Mechanistic Implications, *Nature*, 333, 232-237.
- Yeh, Y., and R. E. Feeney (1996) Antifreeze Proteins: Structures and Mechanisms of Function, *Chem. Rev.*, 96, 601– 618.
- Zepeda, S., Yokoyama, E., Uda, Y., Katagiri, C., and Y. Furukawa (2008) In Situ Observation of Antifreeze Glycorotein Kinetics at the Ice Interface Reveals a Two-Step Reversible Adsorption Mechanism, *Cryst. Growth Des.*, 8, 3666–3672.

氷を機能性材料とする分離と計測法の展開

高橋さつき¹⁾,田崎友衣子²⁾,岡田 哲男¹⁾

2012年9月15日受付, 2013年1月7日受理

氷を一種の機能性材料と考えることで、アイスクロマトグラフィー、その発展系であるキラルアイ スクロマトグラフィーを始め、新しい分離・計測化学を展開することができる.本稿では、著者らが 最近数年間行っている、「氷ではかる」研究を紹介する.分離の他に、分光測定デバイスとしての氷、 氷マイクロリアクターなどについて述べる.また、「氷ではかる」ことにより、氷が関わる現象を理 解することもできる.氷界面での擬似液相、ドープ氷中の共存液相で起きる化学反応、電解質ドープ 氷中でのイオンの局所構造変化などに関して言及する.

Developments of Separation and Analytical Methodologies with Ice as Functional Material

Satsuki Takahashi¹, Yuiko Tasaki², Tetsuo Okada¹

We have developed a variety of analytical methods with ice as a functional material, which include ice chromatography, chiral ice chromatography, optical measurement with an ice-cladding liquid-core waveguide, microreactors, etc. These methods developed with ice are briefly reviewed. Also, the measurements with ice have allowed the exploration of interesting phenomena related to ice, involving quasi-liquid later formation at the interface between ice and an organic solvent, facilitation of some chemical reactions in the liquid phase coexistent with ice, specific ion hydration at the temperature below the eutectic point of the system etc. This clearly suggests that the measurements with ice lead to the understanding of ice.

1. はじめに

分離や計測には種々の機能性物質が利用される.単独 でセンシングや分子認識能を発揮する機能性分子から, nmオーダーの量子ドットやミセルなど分子や原子の集 合体,µm~mmあるいはそれ以上の大きさを持つバル ク材料など,機能性物質には種々のディメンジョンや階 層のものが存在する.また,基材となる物質には特筆すべ き機能がなくても,化学結合などを利用して機能性分子 を導入することにより,基材物質に新たな機能を付与す ることも可能である.液体クロマトグラフィーの固定相 や金ナノ粒子などを用いるバイオセンシングなどにはこ

1) 東京工業大学大学院理工学研究科化学専攻

 2)環境管理技術研究部門 独立行政法人産業技術総合研 究所

- ¹ Department of Chemistry, Tokyo Institute of Technology, Meguro-ku, Tokyo 152-8551, Japan
- ² Research Institute of Environmental Management Technology, National Institute of Advanced Industrial Science and Technology, Tsukuba 305-8569, Japan

のような手法が多用されている(Kaji et al., 2007; Sato et al., 2007).液相での分離や計測を想定すると,均一 液相内で反応を起こして最終的に何らかのシグナルとし てその反応の過程や結果を測定する場合と,液相内に固 体や微粒子,分子集合体などの不均一場を形成し,その 界面で計測する場合を区別することができる.後者のよ うに界面を導入する方が,計測に多様性が生じることは 明らかであろう.現在の分析化学,計測化学はこのよう な反応場,分離場としての界面に強く依拠している.

氷は、ありふれた物質であるが、同時に謎に満ちた魅力的な物質でもある.その基本的な物性は多方面から研究されているが、氷の表面や他相との界面については未解明、未知なことが多い.たとえば、氷表面が固体か液体か、液体の場合液層の厚さはどの位か、その温度依存性はどの程度か、などの疑問に答えるべく種々の実験的、理論的研究が試みられてきた.その結果、少なくとも融点近傍で表面液層が存在することは誰もが認めるところになっているが、液相の厚さやその温度依存性は試料や評価手法による違いが大きい.また、地球環境における物質循環に氷が深く関与していることが指摘されて

おり(Sodeau and O'Sallivan, 2008), 氷表面や氷と共 存する液相が反応場として一定の役割を果たすものと考 えられているが,反応場の特性や物性は必ずしも明らか でない.

計測や分離の設計には界面をうまく利用する必要があ ること、一方で氷が種々の物質輪廻に関与しているこ と、これらに着目すると、氷の界面を反応や計測に用い るという発想が生まれる.従来、氷は計測の対象では あったが、計測のツールではなかった.したがって、 「氷ではかる」という観点で行われた研究例はほとんど ない、「氷ではかる」ことは当然氷を知ること、すなわ ち「氷をはかる」、「氷を理解する」ことにもつながる. 本論文では、著者らが最近数年間行っている氷を機能性 材料とした分離と計測の展開、およびそれらを通じて見 える氷の化学について述べる.

2. アイスクロマトグラフィー

氷を固定相として用いる液体クロマトグラフィーの実 施例が報告されている.氷の塊を粉砕して用いるもの と、雪をそのまま用いるものである.しかし、いずれも 分離には至っておらず,溶質によって氷との相互作用に よる差がありそうだと言える程度のものである (Dasgupta and Mo, 1997; Supatashvili and Kartvelistvili, 1986).また、いずれの研究でも検出の容易さを考えて 色素を溶質に用いており,氷への吸着を分子構造的観点 から考慮していない. 著者らが, アイスクロマトグラ フィーの検討を始めて, 分離法として用いるには以下の 点が重要であることがわかった.一つは、安定的にグラ ムオーダーの氷固定相(氷微粒子)を調製すること.も う一つは適切な溶質を選ぶことである. 試行錯誤の結 果,水や水溶液のミストを直接液体窒素中に噴霧する方 法が氷固定相の調製に最適であり,比較的再現性良く同 じ状態の氷固定相を調製できるようになった(Tasaki and Okada, 2006; Tasaki and Okada, 2008B; Tasaki and Okada, 2009B; Okada and Tasaki, 2010). また, 氷固定相と溶質との相互作用についても精密な議論が可 能になった.氷表面には,-OHと-O-ダングリングボ ンドがあり,いずれも水素結合に関わることが予想でき る.水素結合サイトをもつ溶質を種々選んで検討したと ころ、分子内に二個の極性基をもつものが適切な保持を 示すことがわかった. Fig.1 に, エストロゲンの分離例 を示す.氷の溶解を防ぎ,溶質との水素結合が起きやす い非水系結合性として、媒体ヘキサンを主な移動相とし て選択した.また、少量の極性溶媒(THF やジエチル エーテル)を加えて溶質の保持を調節した.エストロゲ ンの分離では、ジエチルエーテル (DEE) の濃度の調 節で、エストロンとエストラジオールの溶出は確認でき たが, エストラジオールより OH 基が一つ多いエスト

リオールは氷カラムからの溶出が確認できなかった.エ ストリオールの氷への吸着が強く,溶出しなかったもの と考えられる.また,エストロンの保持は小さく,エス トラジオールとエストロン間の分離比は6.1程度であっ た(分離比は,保持指数または修正保持時間の比であ る).一方同様に表面のシラノールへの吸着で分離が起 きるシリカゲルでは分離比が2程度であった.エストロ ンとエストラジオールではカルボニル基とOH 基の違 いがあるだけだが,後者の方が水素結合性は強いと考え られる.水素結合という機構は,氷とシリカゲルで同じ であるにもかかわらず,氷の方がOH 基の数を強く識 別していることを示唆している(Tasaki and Okada, 2009B).

溶質と氷表面で形成される水素結合の数は以下のよう に決定できる. THF や DEE などの移動相中の極性成 分の濃度を変化させると,溶質の保持も変化する. THF や DEE は一分子当たり一つの水素結合しか形成 しないので,氷表面での競争吸着を仮定すると,溶質の 保持指数 (k) は以下の式で表される (Tasaki and Okada, 2006; Tasaki and Okada, 2009B).

$$k = \frac{A\Gamma_{\text{OH-S}}}{V_{\text{mob}}[S]} = \frac{A\Gamma^{\text{t}}_{\text{OH}}K_{\text{s}}}{1 + K_{\text{PC}}[\text{PC}]^n}$$
(1)

ここで、 K_{PC} および K_s はそれぞれ極性成分と試料の氷 表面への吸着平衡定数であり、 Γ^t_{OH} は -OH サイトの全 表面濃度、 Γ_{OH-s} は溶質が結合した -OH サイトの表面 濃度、 $A \ge V_{mob}$ はそれぞれ氷固定相の表面積とカラム 内移動相の体積、 $[PC] \ge [S]$ はそれぞれ移動相中の 極性成分と溶質の濃度、n は溶質と氷表面間で生じる水 素結合の数を表わす。(1)式において $1 < K_{PC} [PC]^n$ が 成り立つと、 $\log k \cdot \log [PC]$ プロットは傾き-nの直線 を与えることになる。実際に、DEE 濃度を変化させて



Fig.1 : Ice chromatographic separation of estrogen. Mobile phase, 5% DEE in hexane. Detection, UV (275 nm). Temperature, -10°C.

Column, 7.5 mm i.d×150 mm packed with \sim 75 μ m ice particles as a stationary phase. Taken from Tasaki and Okada (2009B) with permission of the American Chemical Society.

いくつかの試料の保持変化を測定すると直線が得られ た. Table 1 に得られた n の値を示す. フェノール類 は-O-サイトへの吸着も起こり得るが,保持の DEE 濃 度依存性においてエーテル類と差は見られなかった、こ のことから、フェノール類のように水素結合に関して両 性をもつ分子でも,-OH サイトへの吸着が支配的であ ると考えられる. OH 基を2つ持つヒドロキノン (HQ) とレゾルシノール (RS) について, どちらも n ~2 であることは、上述のモデルを支持しており、2つ の OH 基がいずれも氷表面との相互作用に関わってい ることを示している.ポリエーテルの n が,溶質分子 内のエーテル基の数より小さく, n=1.5~2.6 であるこ とは非常に興味深い. これは、エーテル基の数に関係な く1分子当たりおよそ2本の水素結合形成で氷表面に吸 着することを示唆している.ただし、相対的な吸着の強 さはエーテル基の数に依存するので, エントロピー効果 や吸着に関与する極性基の配置などが副次的に働いてい ると考えられる(Tasaki and Okada, 2008B; Tasaki and Okada, 2009B).

氷固定相への分子構造と吸着特性の関係がわかったことで、どのような物質の分離に利用できるかが概ね明らかになった.Table1にも示したように、ポリエーテル類やフェノール、アルコール類の分離が可能であったほか、アミノ酸の誘導体や葉緑素などの分離も可能であった.Fig.2に葉緑素成分の分離例を示す.溶出成分が未知であるので、物質に関する情報を得るために連続的に溶出液の紫外可視吸収スペクトルを測定し、三次元クロマトグラムとして表示した.このように複雑な混合物の分離に氷を用いることができたが、氷粒子の融着により固定相の連続使用時間が限定される、また固定相の密な充塡が困難であるために分離能があまり高くないなどの実用上解決すべき問題が残されている.このように吸着型の固定相としての氷には分離選択性の点で既存のもの

Table 1. Number of interacting points (*n*)

compounds	п	DEE conc .range / $\%$ (v/v)
hydroquinone	2.06	4 - 11
POE(4)-NPE	1.56	5 - 12
POE(6)-NPE	2.37	6 - 13
resorcinol	2.17	4 - 11
B18C6	1.77	4 - 11
DB24C8	2.61	7 - 14

The *n* values were determined based on 6-8 measurements. Abbreviation: POE(p)-NPE, polyoxyethylene(p)nonylphenylether (p is the number of repeating oxyethylene units); B18C6, benzo-18-crown-6; DB24C8, dibenzo-24-crown-8.

とは異なる特徴があることがわかった.氷の固定相とし ての魅力は,以下の分配や,機能性分離材料の点でより 明確に示される.

3. 分配と吸着のスイッチング

氷固定相の特徴の一つに,塩などをドープすると液相 が生じる点がある.以下,塩などの水溶液を凍結したも のをドープ氷ということにする.これを利用すると,ア イスクロマトグラフィーで,吸着一分配のスイッチング や制御が可能である (Tasaki and Okada, 2009A; Tasaki and Okada, 2011).固定相が複数の相を含んでいて, その割合を連続的に制御できる分離系はこれまで知られ ていない.この点で,ドープ氷はアイスクロマトグラ フィーの方法論的特徴が良く現れる系である.固定相と して,NaClやKClを含む氷を用いた例を以下に示す. KCl-水,NaCl-水系の共晶点はそれぞれ-10.6℃, -21.1℃であり,共晶点組成よりも希薄な系では,系の 融点以下・共晶点以上の温度領域で氷と濃縮された電解 質溶液が共存する.また,相図に基づいて液相の割合や 共存液相の塩濃度を計算することが可能である.



Fig.2: Three-dimensional representation of ice chromatographic separation of ingredients in green tea leaves with gradient elution. Mobile phase, gradient from hexane (0-8.7min) to 6.0% DEE in hexane (49.0 min). Temperature, -10° C.

共存液相が存在する状態で,溶質の保持指数は以下の

式で表すことができる.

$$k = k_{\rm ad} + k_{\rm par}$$
$$= k_{\rm ad} + K_{\rm d} V_{\rm liq} / V_{\rm mob}$$
(2)

ここで、kad, kpar はそれぞれ氷表面への吸着、共存液 相への分配による保持指数への寄与を表す.また,後者 は共存液相の体積(V_{liq})と分配係数(K_d)によって表 される.共存液相の体積は相図から計算し,分配係数は アイスクロマトグラフィー条件(温度,イオン強度,移 動相組成)における分配実験から決定することができ る. Fig.3 には, NaCl または KCl をドープした氷固定 相を用いて得られた RS と HQ の保持指数とそれらの 計算値を示す.RSはHQに比べて氷への吸着が大き く,液相がないときには HQ よりも保持が大きい.一 方で、液相が生じると、水に分配されやすい HQの保 持の方が RS より大きくなる.温度変化,塩濃度変化い ずれに対しても、実験値と計算値は良く一致しており、 これらの実験パラメータを変化させることで共存液相体 積を変化させ、それにより保持を制御できることが明ら かになった.しかし、プローブ物質により実験と計算の 一致が必ずしも良くない例もある.一般に水への分配が 小さな物質ほど氷と共存している液相にはよく溶ける傾 向があり、共存液相の物性がバルク水とは異なることを 示唆している.このようなデータの集積とその機構の解 明は今後の課題である.

4. キラルアイスクロマトグラフィー

塩は氷中に液相を生じさせる機能をもつが、通常の塩 では構成成分であるイオンの特徴が強く現れることはな い.一方,機能をもつ溶質の水溶液を凍結すると、その 機能が氷上で発揮されることが期待できる.氷に分離機 能を持たせるために,氷にキラル認識能を付与すること を考えた.キラルセレクタの水溶液を凍らせると、キラ ルセレクタを氷上に固定することができる. 通常のキラ ル分離は, 合成反応を駆使してシリカゲルなどの固体上 にキラルセレクタを導入する. 高温ではラセミ化により キラルセレクタのキラル認識能が失われることがあり, この合成には労力と時間,高い合成技術や能力が求めら れる (Ward and Baker, 2008). そのため, 市販のキラ ル固定相は大変高価である.したがって、新たなキラル セレクタをキラル固定相として手軽に試してみることも できない.水溶液の凍結で固体上にキラルセレクタを導 入することができれば、合成なしに、凍結だけでテー ラーメイドのキラル固定相調製が可能になる.このよう な考えに基づいてキラルアイスクロマトグラフィーを考 案した.

Fig.4 は (R, R)-N, N'- ジイソプロピル酒石酸アミド の水溶液を凍結して得られたキラルアイス固定相による キラル分離例である.分離能があまり高くないので,円 偏光二色性検出によるピークを示す.正方向と負方向の ピークが現れておりキラル分離が起きていることがわか



Fig.3 : Changes in *k* for hydroquione (HQ) and resorcinol (RS) with the NaCl concentration at -10 °C (left) and with temperature at the constant NaCl or KCl concentration (40 mM) (right). Mobile phase, 20 % (V/V) butyl ether in hexane. Curves were calculated from the liquid phase volumes and the partition coefficients. Taken from Tasaki and Okada (2011) with permission of the American Chemical Society.



Fig.4: Chiral ice chromatographic separation of 1,1'-bis-2-naphthol (upper) and hexobarbital (lower) with diisopropyl-tartamide (DIPTA) doped ice stationary phase.

Left, expected separation mechanism.

Chiral separation of binaphthol; 5 mM DIPTA-doped ice stationary phase with hexane as the mobile phase at -5 $^\circ\text{C}.$

Separation of hexobarbital; 10 mM DIPTA-doped ice stationary phase with 0.5 % THF in hexane as the mobile phase at -10 °C.

る. Fig.4 中に模式図を示したように, (R, R)-N, N'-ジ イソプロピル酒石酸アミドは,水素結合によりキラル認 識する (Dobashi et al., 1991).したがって,認識はヘ キサンを主成分とする移動相を媒体として起きている, つまり氷と移動相の界面に(R, R)-N, N'-ジイソプロピ ル酒石酸アミドが存在することを示唆している.このよ うに,凍結だけで,機能性固体材料を調製することがで きるという概念を明確に示すことができた.

一方,キラル認識を共存液相で起こすことも可能であ る.Fig.5 に β -シクロデキストリン (β CD) と KCl を 同時にドープした氷固定相を用いたキラル分離の例を示 す (Shamoto et al., 2010). β CD はバケツ型の分子で あり,分子開口部の大きな側からゲスト分子を取り込 み,包接化合物を形成する. β CD を氷の表面に固定す ると, β CD が様々な方向を向いてしまい,キラル認識 に最適な分子配向をとることができない.その結果,キ ラル認識できる β CD 分子は限定される.実際に β CD だけをドープした氷では Fig.5 のような分離はできな かった.一方,塩を同時にドープすると共存液相が生じ る. β CD は共存液相に溶解し,キラル認識は共存液相 中で起きる.この場合,溶質は移動相から共存液相に分 配し,そこで β CD と包接化合物を形成する.Fig.5 の 結果はこの機構に基づいて説明できることがわかっている.しかし,バルク水溶液中よりも,共存液相では数倍 キラル認識能が大きくなっていることがわかった.この ことからも共存液相をバルク水溶液の延長と考えること は必ずしも正しくないことがわかる.

5. 界面擬似液層の検出

アイスクロマトグラフィーは、新しい分離場を提供 し、また氷上での相互作用をプローブする上で有効であ ることがわかった.さらに、この方法は氷の界面擬似液 相の評価にも適用できた(Tasaki and Okada, 2008A). Fig.6 はプローブとして用いた HQ と RS の保持の温度 依存性である.低温域では温度上昇と共に保持が若干弱 くなっている.これは水素結合生成が一般に発熱的であ ることと一致する.一方、氷の融点直下の温度で保持が 急速に大きくなっており、これは氷の界面が液体的にふ るまうために、主要な保持機構が吸着から分配に変化し たことを示唆する.このように生じた擬似液体層は通常 のバルク水とは異なる性質を持つ可能性があると思われ るが、第一近似としてプローブ物質の分配係数に基づい て融点直下での急速な保持変化を(2)式に従って説明す



Fig.5 : Chiral ice chromatographic separation of hexobarbital (A) and 1,1'-bis-2-naphthol (B) with UV detection (upper) and circular dichroism detection (lower). (A) Stationary phase: ice doped with 0.5mM β -CD and 75mM KCl, Mobile phase, 0.5% (v/v) THF in hexane. Temperature, -8 °C. Detection at 230 nm. (B) Stationary phase: ice doped with 10 mM β -CD and 100 mM KCl. Mobile phase, 0.1% (v/v) THF in hexane. Temperature, -8 °C. Detection at 280 nm. Taken from Shamoto et al. (2010) with permission of the American Chemical Society.

ることを試みた.未知数は氷界面の液層体積のみである ことがわかる.したがって,固定相の表面積から液層の 厚さを算出することが可能である.結果をFig.7に示 す.均一な厚さの液層が生じると仮定すると,厚さは nmから10 nmのオーダーである.ここで求めた液層の 厚さは,これまで氷表面に関して報告されている擬似液 体層厚さに比較的近い値であるが,その温度依存性は報 告値より極端に大きい(Sadtchenko and Ewing, 2003; Ewing, 2004).このことは,アイスクロマトグラフィー が氷と移動相の界面を扱っていること,移動相成分の THFが関与して界面液相の発達を促していることなど



Fig.6: Temperature dependence of ice chromatographic retention factors for hydroquinone and resorcinol. Mobile phase, 3 % THF in hexane.

によるものと考えられる.より高濃度のTHFを含む系 では液相の発達する温度帯でTHFハイドレートが成長 することを顕微ラマン測定により直接検出している (Muro et al., 2012).アイスクロマトグラフィーの測定 時間内にはハイドレートの成長は無視できると考えられ るが,界面融解がハイドレートの成長に深く関与してい ることを示している.Fig.7から,プローブにより算出 される液層の厚さに若干の差があることがわかる.これ は界面液層をバルク水と同じ物性を持つものとして扱う ことの問題点,別の言い方をすると界面液層への分配特



Fig.7: Temperature dependence of the quasi liquid layer (QLL) developed at the interface between ice and 3 % THF in hexane as determined by ice chromatography. Taken from Tasaki and Okada (2008A) with permission of the American Chemical Society.

性がバルク水への分配特性とは異なることを示唆してい る.

6. 共存液相濃縮による高感度計測と金属錯体の 蛍光特性変化

電解質溶液を液体窒素などで急速凍結すると,氷の中 に電解質結晶が分散した状態になる.この電解質ドープ 氷を共晶点以上の温度にすると,電解質は周辺の氷を融 かして溶液となり,その体積は温度と共に大きくなる. Fig.8 はフルオレセインと KCl をドープした氷の共焦点 蛍光顕微鏡画像である.明るく見えるところが液相,暗 い部分が氷である.塩濃度が 60 mM を越えると,液相 同士がつながり,徐々にチャンネル構造へと変化する



Fig.8 : Confocal fluorescence image of KCl-doped ice. The concentration of KCl in an unfrozen solution was 10 mM. Concentration of fluorescein, 0.6 μ M. Temperature, -8 °C.

が、それ以下の濃度では離散的なほぼ球状の液相が生成 する.液相の大きさを個々の液相からの蛍光強度を測定 することで決定した.結果を Fig.9 に示す(Hashimoto et al., 2011).温度とドープする塩の濃度を変化させる ことにより 0.3~4 μ m 程度(体積として aL~fL レベ ル)の範囲で、一つの液相の大きさを制御することが可 能であった.電解質水溶液を凍結するという極めて単純 な方法であるが、生じる液相の大きさは比較的再現性が 高く、径の相対標準偏差は 10%以下であった.また、 ペルチェ素子上で-15°C程度で凍結させると液体窒素凍 結に比べてやや大きさのばらつきが大きくなったが、調 製できる液相ポアのサイズはほぼ同じであった.

この液相を微小空間測定場として利用することで,液 相への濃縮と濃縮による平衡シフトを利用して高感度化 や高選択性化を図れると考えた.また,共存液相は内部 が液体の水,それを取り囲む壁は固体の水という他に類 のない制御空間である.また,温度により連続的にサイ ズ制御できる点もユニークである.水中の液相を反応場 や測定場として利用するには,反応物の混合が必要であ るが,自由に氷中で物質を混合することは容易ではな い.そこで,第一段階として混合物の凍結による反応を 検討した.Mg²⁺はヒドロキシキノリン類と蛍光性の錯 体を形成する.これを利用して,共存液相の測定場とし ての有効性を検証した.配位子にはヒドロキシキノリ ン-5-スルホン酸(HQS)またはオキシン(ox)を用い ることで,錯体の外部構造等の違いによる効果を期待し た.

HQS を用いて得られた氷共存液相からの蛍光強度の 濃度依存性を Fig.10 に示す.HQS 過剰条件では nM ν ベルの Mg^{2+} が測定できることがわかる.このような高 感度は,凍結濃縮により Mg^{2+} 濃度が高くなる効果に加 えて, Mg^{2+} と HQS が共存液相中に濃縮されたことに



Fig.9: Size of a liquid phase developed in salt-doped ice as functions of temperature and salt concentration. Taken from Hashimoto et al. (2011) with permission of the American Chemical Society.


Fig.10 : Fluorescence intensity from a liquid phase disolving $\mathrm{Mg}^{\scriptscriptstyle 2+}$ and HQS.

Taken from Hashimoto et al. (2011) with permission of the American Chemical Society.

より錯生成が進む方向に平衡シフトしたことによる. 1 nM は一つの液相当たり約 10³ 個の Mg²⁺ を含んでいる ことに相当する.したがって,凍結するだけで 1000 個 程度の金属イオンが検出できたことになる.

一方,濃縮の効果を考慮すると HQS 錯体の蛍光強度 増加は解釈できたが,ox 錯体では予想される蛍光強度 よりも強い発光が計測された.ox 錯体は元々HQS 錯体 に比べて蛍光強度が小さいが,凍結状態ではこの関係が 逆転し,ox 錯体の方が強い蛍光を発するようになった. Mg²⁺の HQS 錯体では1:1 錯体の方が1:2 錯体より 蛍光強度が高いのに対し,ox 錯体では1:2 錯体の方が 強い蛍光を発する.このことを考慮すると,共存液相中 で,1:2の Mg²⁺-ox 錯体生成が促進されていると考え られる. 錯体の外部構造を考慮すると,水中では安定に 存在しない化学種が共存液相中では安定に存在すること を示唆しているように思える.

7. 氷の分光特性を生かした計測

氷の屈折率は n_p=1.309 であり, 固体としては特筆 すべき小さい値である.この値は一般的な多くの液体の 屈折率より小さい. 光ファイバーの光導波の原理(コア の屈折率がクラッドより小さく、コア/クラッド界面で 光が全反射する)に従うと,屈折率の小さな固体で液体 を囲むと,液体コア光導波路を形成できる.分光計測に おいて,液体コアの光導波路は界面計測や長光路に基づ く高感度測定に有効であり、蛍光、ラマン(Holts et al., 1999),紫外可視分光測定(Pan et al., 2010)やキャ ピラリー電気泳動などに利用されている(Wada et al., 2006; Okada, 2007). しかし, 液体コア導波路の調製に 適した低屈折率の固体材料は限られており、アモルファ ステフロンの Teflon AF2400 (n_p=1.29) が知られて いる程度である.しかし, Teflon AF2400 は表面に傷 や汚れが付きやすく、かつ高価な材料である.氷の屈折 率は Teflon AF2400 より若干大きいが,液体コアの光 導波路のクラッドとして利用できる数少ない固体材料で ある.

Fig.11 に氷の中に曲がったトンネル構造内に NaCl 水 溶液を満たしたときと空のときの光の導波の状況を写真 で示す.トンネルが空のときにはレーザー光が入り口付 近ですべて散乱しているのに対し,水溶液で満たされる と出口に届いていることがわかる.壁が滑らかでないた めに氷と水溶液の界面で散乱が起きているが,液体コア の光導波路が形成できている.この原理を利用して,氷



Fig.11: Ice-cladding liquid-core waveguide. Left, empty tunnel in ice plate. Right, the tunnel filled with aqueous NaCl solution. We can see laser light scattering at the inlet of the empty tunnel, whereas the scattering occurs at the entire inner wall of a liquid-filled tunnel and can also be seen at the outlet of the tunnel, suggesting the successful waveguiding of the latter.

をクラッド, ヘキサンをコアとする光導波路分光セルを 作製し, 5 cm 程度の長光路セルとして利用可能である ことを示した (Sugiya et al., 2009). さらに光路長を長 くするには氷と液体の界面を滑らかにする方法が必要で ある.

8. ドープ氷中の電解質の状態

Fig.9の液相の体積から、一つの液相に溶解している 電解質の物質量を見積もることができる. 凍結溶液中の 電解質濃度が高いほど、液相体積が増加しており、液相 の種になっている電解質の物質量も大きくなっていると 考えられる.一つの液相が電解質の単結晶から生じると 仮定すると, 共晶点以下で氷中に存在する電解質結晶の 大きさは1mM KCl では約0.2 µm, 10 mM では約0.8 μm と見積もることができる.一方,小角X線散乱を用 いて同じ電解質ドープ氷を測定すると, 電解質結晶の大 きさは約2nm であり, 濃度依存性はほとんどないこと がわかった.また,散乱強度は電解質濃度に比例して大 きくなることから、以下の描像が考えられる. 凍結時に は臨界結晶核のサイズに近い2nm 程度の小さな結晶の みが生じ,氷の結晶化に伴って氷結晶のグレインバウン ダリーに蓄積される.これらが溶ける際に、小さな液滴 は不安定であるためにある程度の数が集合し,最終的に サブマイクロメーター程度の液相を生じる.この液相の 数密度は塩の種類や濃度によらずほぼ一定であった.つ まり、液相ができやすい場所は氷結晶の都合で決まるこ と、そのような場所の数密度は一定であることがわかっ た.

電解質ドープ氷を試料として,共晶点付近を中心にX 線吸収微細構造 (XAFS) による構造解析を行った.典 型的な測定結果を Fig.12 に示す. $\alpha \ge \beta$ は,それぞれ RbBr 中の Br⁻ および水和 Br⁻ の割合を表す. α には 0.2 程度の誤差があるために, $\alpha + \beta$ が1を越えている 温度もあるが,共晶点以下で電解質 (RbBr)を形成し



Fig.12 : Temperature dependence of the ratios of hydrated Br⁻ (blue) and that in the RbBr crystal (red) in 1 mM RbBr ice as determined by X-ray absorption fine structure at the Br-K edge.

ていた Br⁻ が,共晶点付近を境に水和することがよく わかる.一方,熱力学では解釈できない現象も見つかっ ている (Tasaki et al., 2010; Harada et al., 2012).

- 低濃度の電解質を凍結すると、共晶点以下で水和構造が相当な割合で維持される
- ② 条件によって①の水和構造が時間変化し、最終的に 電解質結晶の構造に変化する
- ③ イオンの水和の観点からは、イオンの水和に関与で きる自由な水分子が氷表面で不足している。
- ④ 氷表面では一次元結晶構造が生じ、その陽イオン側から水和が起こる。

①と②については、上述の臨界結晶核にも関係がある と考えられる.すなわち、2nm 程度の微細な結晶では 表面に存在するイオンが結晶内部のイオンに比べて多 く、部分的に水和している可能性が高い.一方で、時間 変化することは水和構造を保ったイオンがそのまま凍結 されている可能性を示唆しているとも考えられる.ま た、①の現象が共晶点以下の温度で過冷却液相が残って いることによると考えると、液相の体積を算出すること ができる.これは、上述のドープ氷を用いるアイスクロ マトグラフィーでも確認されている.これらからも「氷 ではかる」ことが「氷をはかる」ことにつながっている と言うことができる.②の現象が起こる温度などの条件 は相当狭い範囲に限られており、再検証が必要である が、氷の中でイオンとイオン結晶が織りなす現象として 興味深い側面を含んでいる.

9. さいごに

氷を機能性材料と位置づけることで可能になる新たな 計測法の展開と、そこから見える氷の化学について簡単 に述べた.この他にも、電気化学測定、共存液相のチャ ンネル構造を利用した測定、凍結による高感度化、共存 液相での反応や pH などについて検討を行っている.本 稿でも、βCD のキラル認識促進や疎水性物質の特異溶 解が起きる可能性を指摘したが、クラウンエーテルの錯 生成がバルク水中にくらべて4桁程度大きくなる現象も 見つけている(Tasaki and Okada, 2012).いずれもな ぜ起きるのかはわかっていないが、現象として大変興味 深いものばかりである.これらの解明を含めて、「氷で はかる.氷をはかる.」ことをもう少し進めてみたいと 考えている.これらの結果についても近い将来紹介した い.

本論文記載の研究は、科学研究費補助金,研究成果展 開事業「先端計測分析技術・機器開発プログラム」(科 学技術振興機構)によって行われた.

参考文献

- Dasgupta P. K. and Mo Y. (1997) Chromatography on Water-Ice, *Anal.Chem.* **69**, 4079-4081.
- Dobashi Y., Nakamura K., Saeki T., Matsuo M., Hara S., and Dobashi A. (1991) New Chiral Polysiloxane Derived from (*R*, *R*)-Tartramide for Enantiomer Resolution by Capillary Gas Chromatography, *J. Org. Chem.*, *56*, 3299– 3305.
- Ewing G. E. (2004), Thin Film Water, *J. Phys. Chem. B*, **108**, 15953–15961.
- Harada M., Tasaki Y., Qu H., and Okada T. (2012), Hydration of Ions and Salt Crystallization in Liquid Phase Coexistent with Ice at Temperature below Eutectic Point, *RSC Adv.*, **2**, 461-466.
- Hashimoto T., Tasaki Y., Harada M., and Okada T. (2011), Electrolyte-Doped Ice as Platform of Femto to Attoliter Reactor Enabling Zeptomol Detection, *Anal. Chem.*, 83, 3950–3956.
- Holtz M., Dasgupta P. K., and Zhang G. (1999) Small-Volume Raman Spectroscopy with a Liquid Core Waveguide, Anal. Chem., 71, 2934–2938.
- Kaji N., Tokeshi M., and Baba Y. (2007), Quantum Dots for Single Bio-Molecule Imaging, Anal. Sci., 23, 21–24.
- Muro M., Harada M., Hasegawa T., and Okada T. (2012), Formation and Growth of Tetrahydrofuran Hydrate at Ice/Hexane Interface, *J. Phys. Chem. C*, **116**, 13296-13301.
- Okada T. (2007), Liquid-core Waveguide in Capillary Electrophoresis, *Electrophoresis*, **28**, 3414–3419.
- Okada T. and Tasaki Y. (2010), Ice Chromatography: Current Progress And Future Developments, *Anal. Bioanal. Chem.*, **396**, 221–227.
- Pan J.-Z., Yao B., and Fang Q. (2010), Hand-held Photometer Based on Liquid-Core Waveguide Absorption Detection for Nanoliter-scale Samples, *Anal. Chem.*, 82, 3394–3398.
- Sadtchenko V. and Ewing,G.E. (2003), A New Approach to the Study of Interfacial Melting of Ice: Infrared Spectroscopy, *Can. J. Phys.*, 81, 333-341.
- Sato K., Hosokawa K., and Maeda M. (2007), Colorimetric Biosensors Based on DNA-nanoparticle Conjugates, *Anal. Sci.*, **23**, 17–20.
- Shamoto T., Tasaki Y., and Okada T. (2010), Chiral Ice Chromatography, J. Am. Chem. Soc., **132**, 13135-13137.
- Sodeau, J. R and O'Sullivan, D. (2008), Halogen cryo-

reactions and their effects on our atmosphere, in *Recent Developments of Chemistry and Photochemistry in Ice* Ed. Takenaka, N., 111-135.

- Sugiya, K., Harada M., and Okada T. (2009), Water-ice Chip with Liquid-core Waveguide Functionality. Toward Lab on Ice, *Lab on Chip*, 9, 1037–1039.
- Supatashvili G. D. and Kartvelistvili V. G. (1986) Mechanisms of Substance Fractionation during the Partial Melting of Snow (in Russian), *Bull. Georgian Acad. Sci.*, 23, 38-43.
- Tasaki Y. and Okada T. (2006), Ice Chromatography. Characterization of Water-ice as a Chromatographic Stationary Phase, *Anal. Chem.*, **78**, 4155-4160.
- Tasaki Y. and Okada T. (2008A), Ice Chromatographic Characterization of Thin Liquid Layer at the Interface between Water-ice and Organic Solvent, *J. Phys. Chem. C*, **112**, 2618–2623.
- Tasaki Y. and Okada T. (2008B), Ice Chromatography. Modification of Solute Retention on Water-ice Stationary Phase, J. Chromatogr. A, 1189, 72-76.
- Tasaki Y. and Okada T. (2009A), Adsorption-partition Switching of Retention Mechanism in Ice Chromatography with NaCl-doped Water-ice, *Anal. Sci.*, 25, 177-181.
- Tasaki Y. and Okada T. (2009B), Facilitation of Applicability in Ice Chromatography by Mechanistic Considerations and by Preparation of Fine Water-ice Stationary Phase, *Anal. Chem.*, 81, 890–897.
- Tasaki Y., Harada M., and Okada T. (2010), Eutectic Transition of Local Structure for Bromide Ion in Bulk and on Surface of Doped Ice, *J. Phys. Chem. C*, **114**, 12573–12579.
- Tasaki Y. and Okada T. (2011), Control of Ice Chromatographic Retention Mechanism by Changing Temperature and Dopant Concentration, *Anal. Chem.*, 83, 9593– 9599.
- Tasaki Y. and Okada T. (2012), Up to Four Orders of Magnitude Enhancement of Crown Ether Complexation in Aqueous Phase Coexistent with Ice, J. Am. Chem. Soc., 134, 6128-6131.
- Wada A., Harada M., and Okada, T. (2006), Kinetic Monitoring of Electrophoretically Induced Solute Reaction by Axial Absorption Detection with Liquid-core Waveguide, *Anal. Chem.*, 78, 4709-4712.
- Ward T. J. and Baker B. A. (2008), Chiral Separations, Anal. Chem., 80, 4363-4372.

-35°Cの過冷却状態までの水の構造

横山 晴彦¹⁾,梶原 みよ子²⁾,菅野 等³⁾

2012年9月28日受付, 2013年1月7日受理

純水のX線回折測定により得られた-15℃の過冷却状態までの動径分布関数の~10.8Åの距離に特 異的なピークが見出された.-15℃の過冷却水の動径分布関数は,正12面体とその会合構造を含む ガスハイドレートの水素結合ネットワークで表されるクラスレート様構造を仮定して説明することが できた.このネットワークは正五角形5員環水素結合構造を基本単位にもち,かなり高い温度からそ の形成が始まる.氷I様の水素結合構造は-15℃までの水中にはほとんど見られないが,エマルショ ン粒子中で-35℃付近まで過冷却されたとき,この構造をもつクラスターも生成されることが分かっ た.重水に対する測定からも同様の結果が得られた.

Structure of liquid water at temperatures down to -35° C in the supercooled state

Haruhiko Yokoyama¹, Miyoko Kajiwara (formerly Kannami)², Hitoshi Kanno³

X-ray diffraction measurements have been carried out for pure liquid water at various temperatures down to -15 °C in the supercooled state. In the radial distribution functions (RDF) a specific peak was found at ~10.8 Å and strengthened in the supercooled state. The RDF at -15 °C could be well explained by theoretical RDFs based on structure models assuming hydrogen-bonded networks in gas-hydrate crystals with some free water molecules in polyhedron cages, such as Pauling's model. The gas-hydrate-like structures have pentagon structures composed of five water molecules as the structural unit, constructing the dodecahedrons and their aggregates. The formations of these structures seem to start at rather high temperatures above ~25 °C. The existence of the ice I-like structure could not be confirmed at temperatures down to -15 °C to -35 °C, together with the formation of gas-hydrate-like structures. The structure of heavy water (D₂O) was also investigated and elucidated to be essentially similar to that of ordinary water (H₂O) although the hydrogen bonds in D₂O were developed slightly more than in H₂O at the same temperature.

1. はじめに

液体には結晶のように遠距離までの秩序性はないが, 分子の形や分子間相互作用による液体構造が存在する. 通常,液体中の分子はピコ秒オーダーで位置を変えるた め分子の集合構造を瞬間的に観測するのは難しい.しか し,無数の集合構造が生成消滅を繰り返しているため, その平均構造はX線回折や中性子回折等により観測する ことができる. 液体の水の構造に対して,これらの構造解析法を用いた多くの研究がなされている¹⁻¹¹⁾.その初期の研究にBernal-Fowler¹⁾,Morgan-Warren²⁾,Nartenら^{3,4)}の研究がある.彼らはいずれも液体水の中に5個の水分子が水素結合して形成された四面体構造が存在すると考え,更に,Morgan-WarrenやNartenらは氷 I 様の水素結合構造に基づく構造モデルを提出している.これに対して,Pauling¹²⁾はガスハイドレート(気体水和物)中の水素結合ネットワーク構造を仮定した全く異なるモ

- 1)横浜市立大学(名誉教授,客員教授) 責任著者 横山晴彦
- E-mail: yokoyama@yokohama-cu.ac.jp
- 2) 横浜市環境創造局(旧姓:神南)

- ¹ Yokohama City University
- ² Environmental Planning Bureau
- ³ National Defense Academy

³⁾防衛大学校(名誉教授)

デルを提出している. Pauling のモデルは,当時 Narten ら^{3,4)}により動径分布関数との比較等から否定された 経緯があるが,正五角形5員環水素結合構造を要素とす る正12面体構造等が含まれるモデルであることから, 過冷却水中におけるクラスレート様構造存在の主張^{13,14)} と関係して興味深い.

水の種々の特異的性質は水分子間の強い水素結合によ ることから,水素結合と深く関係している水構造の解明 とその情報は水の微視的・巨視的性質の理解に大変重要 である.水素結合は温度低下とともに発達するため,構 造がより明確になることが予想される低温での研究は貴 重な情報を提供できると考えられる.とくに,過冷却条 件下での水の異常な性質は過冷却水の構造と密接に関係 している可能性¹⁵⁻¹⁷⁾があり興味深い.

通常の精製水は試験管程度までの小さな容器中では -15℃付近まで容易に過冷却することができる.更に低い温度への過冷却は通常の方法では難しいが,エマル ション粒子中では, $-38\sim-39$ ℃まで過冷却することが できる.この温度は均一核生成温度($T_{\rm H}$)と呼ば n^{18} , 結晶成長に必要な条件を満たした氷結晶核(臨界核)が 生成され過冷却が解消される.

Speedy ら^{19,20)} は, 過冷却温度までの等温圧縮率や定 圧熱容量は, それらの値の低温への補外から, $-45 \sim -46^{\circ}$ C (T_{s}) で発散すると推測した. この温度 T_{s} は singularity point と呼ばれ, ラムダ転移との類似性から 興味がもたれている¹⁴⁾.

我々は、純水のX線回折測定を行い、過冷却水中にガ スハイドレート様の水素結合ネットワークをもつクラス レート様構造が存在することを明らかにした¹⁰⁾.この結 論を導く鍵となった動径分布関数の~10.8 Å 等のピー クは、最近 Congcong Huang ら¹¹⁾ によっても確認され ている.本稿では、まず、 -15° Cまでの過冷却水のX線 回折測定の結果とその液体構造解析について詳しく説明 し、続いて、エマルション試料を用いた新たな測定から 得られた -35° Cまでの結果を示し、 $T_{\rm H}$ への接近に伴う 水構造の変化について述べる.また、 $0\sim100^{\circ}$ Cにおける 水の構造と過冷却水の構造の関係についても考察する. 更に、重水に対する測定から得られた動径分布関数を示 し、その液体構造について軽水と比較する.

2. X線回折測定と動径分布関数

2.1 X線回折測定

X線回折測定には、イメージングプレート(IP) (200 mm×400 mm)二次元X線検出器(カメラ長150 mm),回転対陰極X線(MoKa線,波長 λ =71.07 pm)発生装置を装備したリガク製迅速溶液X線回折装 置(図1)^{10,21,22)}を用いた.測定は、直径約2 mmの液 体試料用キャピラリセル(X線回折用石英ガラスキャピ ラリを加工したセルで、同じ状態で繰返し測定できるた め、再現性の良いデータを得ることができる)²²⁾に試料 を注入しX線(ビーム直径1 mm)を約30分間照射し て行った.試料温度のコントロールは、液体窒素を気化 させ温度制御した窒素ガス(室温より高い温度では加熱 空気)をキャピラリセルの軸方向から吹き付けて行っ た.

測定試料には、過冷却温度の -15° Cから高温の 95°C での測定に対して純水(ミリポア社の超純水製造装置を 用いて得られた精製水)を用い、 -15° Cより低温 (-35° Cまで)の過冷却水に対してはエマルションを用



図1:迅速溶液X線回折装置の概略図²²⁾. Mo:回転対陰極X線源(Moターゲット), Mon:グラファイトモノクロメータ, Col:コリメータ, Cell:キャピラリ セル, In:液体試料注入器, DSt:ダイレクトビームストッパー, IP:イメージ ングプレート, S1, S2:スリット, M1, M2:マイクロメータ, SC:シンチレー ションカウンター

Figure 1 : Outline of the apparatus of rapid X-ray diffraction measurements for liquids and solutions. Mo: rotating anode X-ray generator with Mo target, Mon: graphite monochromater, Col: collimator, Cell: capillary cell, In: injector for liquid sample, DSt: direct-beam stopper, IP: imaging plate, S1 and S2: slits, M1 and M2: micrometers, SC: scintillation counter

いた.

エマルション試料は, 界面活性剤 Span 65 (Sorbitan tristearate) (SIGMA Chem. Co.) を少量含むメチルシク ロヘキサン (MeC₆H₁₁) と純水を,体積比(水: MeC_6H_{11}) $\mathcal{C}1:1$ (H₂O: 55.2 wt%, M₂C₆H₁₁: 41.2 wt%, Span 65:3.6 wt%) あるいは1.7:1 (H₂O: 66.7 wt%, $M_2C_6H_{11}$: 29.8 wt%, Span 65: 3.5 wt%) で混合し, 高速回転撹拌器で撹拌することにより調製し た.エマルション試料は直径1µm 程度のエマルション 粒子が集合したもので、この粒子中の有機物質に包まれ た水は T_H 付近の温度まで過冷却されることは,示差走 査熱量測定(DSC)により確認された.また,生成し た結晶が氷結晶であることは,融解による吸熱ピークが 0°C付近に現れることや、-40~-50°Cにおけるエマル ションのX線回折像が氷結晶のパターンを示すことから 明らかである.エマルション粒子中の水は,界面活性剤 に隣接する界面部を除いてほとんど純水中と同じバルク 水であり、界面近くの水の影響は通常の熱力学的測定や X線回折測定では無視することができる.

重水に対するX線回折測定は,25~-13°Cでは 99.9%重水 (Cambridge Isotope Laboratories)を用 い,それより低い温度では-30°Cまでそのエマルション を用いて行った.エマルション試料は軽水の場合と同様 の方法で調製した.重水:MeC₆H₁₁の体積比は1.7: 1 (D₂O:69.1 wt%, M₂C₆H₁₁:27.1 wt%, Span 65: 3.3 wt%)である.

2.2 動径分布関数

2.2.1 実測の動径分布関数

観測されたX線散乱強度は、セルによる吸収・散乱と 空気散乱を補正した後、試料による吸収・偏光補正を行 い、散乱角2 θ =1.6~130°(s=4 $\pi sin \theta/\lambda$ =0.25~ 16.0Å⁻¹;1Å=10⁻¹⁰m)領域について0.2°間隔でデー タ収集し、KURVLR プログラムを用いて非干渉性散乱 を除去して干渉性散乱強度および構造因子i(s)を求め、 式(1)に示されるフーリエ変換により動径分布関数を導 いた^{10,22-24)}.ここで、式(1)に含まれるシャープニング 関数M(s)は式(2)で表した.本稿では、動径分布関数 を平均電子密度分布4 $\pi r^2 \rho_0$ からの差D(r)-4 $\pi r^2 \rho_0$ (RDFと略記)として表す.

$$D(r) = 4\pi r^2 \rho_0 + \frac{2r}{\pi} \int_0^{s_{\text{max}}} si(s) M(s) \sin(rs) ds \quad (1)$$

$$M(s) = \left(\frac{f_0(0)}{f_0(s)}\right)^2 \exp(-ks^2)$$
(2)

$$\rho_0 = \frac{(\sum n_i Z_i)^2}{V}$$
(3)

式(2)の $f_0(s)$ は酸素原子の原子散乱因子 ($f_0(0)$ はs=0 での $f_0(s)$), kは減衰因子でk=0.01 Å² とおいた.式(3)の V は化学量論的体積で,水分子1個含む平均体

積(それぞれの温度における水の密度を用いて算出; 25℃では30.00 Å³, -15℃では30.03 Å³)とおいた. また,Zは試料中の原子iの原子番号,n_iは体積 V 中 に含まれる原子iの平均数である.

エマルション粒子中の過冷却水の動径分布関数は,測 定で得られたエマルションの動径分布関数(RDF_{em}) から以下に述べる方法で導いた.まず, -10° Cおよび 0° Cの RDF_{em} について,エマルション粒子中の水の動 径分布関数は純水中と同じと見なし,純水の動径分布関 数を用いて見積もり,これを RDF_{em} から差し引くこと により有機物質部分の RDF_{org}を求めた.得られた RDF_{org} に温度依存性がほとんど見られなかったことか ら, -35° Cまで RDF_{org} は変化しないと仮定し, -10° C における RDF_{org} をそれぞれの温度の RDF_{em} から差引 いてエマルション粒子中の過冷却水の動径分布関数を求 めた.氷 I_h の動径分布関数は,氷結晶が析出したエマ ルションに対する -50° CでのX線回折測定により得られ た RDF_{em} から同様の方法で求めた.

重水およびそのエマルションに対して観測されたX線 散乱強度から動径分布関数を導く方法は,軽水の場合と 同様である.重水素原子²H(D)の原子散乱因子等には ¹Hの値を用いた.

2.2.2 理論動径分布関数

構造モデルを仮定した動径分布関数の理論計算は,任 意の原子 p と q の間の距離を r_{p-q} , その根平均二乗変 位 (root mean square deviation)を σ_{p-q} とし,次の式 (4)によりその理論構造因子 $i_{th}(s)$ を,式(5)により対応 する理論動径分布関数 $D_{th}(r)$ を求めることにより行っ た.

 $i_{th}(s)$

$$=\sum_{p}\sum_{q}f_{p}(s)f_{q}(s)\frac{\sin(r_{p-q}s)}{r_{p-q}s}\exp(-\frac{1}{2}\sigma^{2}_{p-q}s^{2}) \qquad (4)$$

$$D_{\rm th}(r) = \frac{2r}{\pi} \int_0^{\rm Smax} si_{\rm th}(s) M(s) \sin(rs) ds \qquad (5)$$

構造モデルで液体水中の全ての原子間相互作用が考慮 されている場合には,理論 RDF $(D_{th}(r) - 4 \pi r^2 \rho_0)$ は実 験で得られた RDF と直接比較することができる. ρ_0 は,構造モデルに基づいた V を用いて式(3)で得られ る.本稿における理論 RDF の計算では,分子内と最近 接水分子間相互作用等を除いて σ_{p-q} の値は r_{p-q} に無関 係に一定とし,また,水素原子の位置は酸素原子と同じ として扱った.理論 RDF は,構造モデルにおける~25 Å までの水分子間相互作用を全て計算により求め,水 分子1個当たりに平均化して示す.

水分子の分子内相互作用は、全ての理論計算において、O-H 結合距離を1.0Å(σ =0.14Å)、H…H間距離を1.58Å(σ =0.20Å)(H-O-H 結合角は104.5°)とし

た.これらの値をどうとるかにより後述の解析結果が変 わることはない.

-15℃までの純水のX線散乱強度と動径分布 関数の描像

図 2 に純水の 95~-15°Cの干渉性散乱強度 $I^{\text{coh}}(s)$, 図 3 に構造因子 $i(s) \varepsilon si(s)$ 曲線として示す.温度の変 化とともに si(s)は連続的に変化し, $s=1.5\sim3.4$ Å⁻¹ 領域では著しく変化している.95°Cにおける si(s)の 2.23 Å⁻¹ のピーク (~2.8 Å⁻¹ にショルダー) は,温度 の低下に伴い分裂し, -15° Cでは 1.98 Å⁻¹ と 2.97 Å⁻¹ の 2 つのピークになっている.si(s)の連続的変化は, 液体水の構造が特定の温度で突然変化することはないこ とを示唆している.

図4と図5に15Åの距離(r)までの動径分布関数 RDF($D(r) - 4 \pi r^2 \rho_0$)を示す. RDF に幾つかの水分子 間相互作用(主として酸素原子間相互作用)に基づく ピークが存在し、その形状は温度により変化している. 2.8~2.9Åのシャープなピーク(ピーク1)は近接水 分子間相互作用によるもので、その位置は2.91Å (95°C), 2.87 Å (25°C), 2.85 Å (0°C), 2.83 Å (-15℃)と、温度低下に伴い短くなっている. 4.5~4.6 Å領域のピーク(ピーク2)には、水素結合 で連結した水分子(H2O-H2O-H2O)の両端の水分子間 の相互作用等が含まれる. ピーク2の位置(4.53~4.56 Å)の温度依存性は小さい. 6.8~6.9 Å領域のピーク (ピーク3)は水素結合ネットワークで構築された構造 によるものと考えられる. ピーク3は6.82Å(-15°C) から 6.88 Å(95°C) へと温度上昇に伴いピーク距離がや や長くなる. ピーク3が95℃でも明瞭であることは、



図2:95°C~-15°Cにおける純水の干渉性散乱強度 $I^{\text{coh}}(s)$. $I^{\text{coh}}(s)$ 曲線の変化の順は測定温度変化の順(95,85,75,65,55,45,35,25,15,5,0,-5,-10,-15°C)と一致している. -15° Cの $I^{\text{coh}}(s)$ 曲線は赤色線(一),他は黒色線(一)で示されている.

Figure 2 : Coherent scattering intensities, $I^{\text{coh}}(s)$, of pure water at 95 °C ~ -15 °C. The sequence of the change of $I^{\text{coh}}(s)$ curves is the same as that of observed temperatures (95, 85, 75, 65, 55, 45, 35, 25, 15, 5, 0, -5, -10, -15 °C). The $I^{\text{coh}}(s)$ curve for -15 °C is shown by a red line (—) and by black lines (—) for the other temperatures.

水素結合ネットワークが高温でも存在することを意味し ている.

RDFの長距離領域の8Åから12Åの間にも2つの ピークが存在し、過冷却温度でより明確になっている. これらを含めた5つのピークの位置は-15°Cでは2.83 Å,4.54Å,6.82Å,8.81Å(ピーク4),10.76Å (ピーク5)となる(図5).ここで,ピーク位置の誤差 (±)は、それぞれ、~0.01、~0.02、~0.03、~0.04、 ~0.1Åである.ピーク4とピーク5は我々によって初 めてその存在が明らかにされた¹⁰⁾(以下において、それ らのピーク位置を~8.8Åおよび~10.8Åと表す). 8.5~12.7Å領域のD(r)に対する逆フーリエ変換によ り、ピーク4と5は図6の赤色曲線で示されるsi(s)成



図3:95°C~-15°Cにおける純水のsi(s)曲線.si(s)曲線の変化の順は測定温度変化の順(95,85,75,65,55,45,35,25,15,5,0,-5,-10,-15°C)と一致している. -15° Cのsi(s)曲線は赤色線(一),他は黒色線(一)で示されている.

Figure 3 : si(s) curves of pure water at 95 °C ~ -15 °C. The sequence of the change of si(s) curves is the same as that of observed temperatures (95, 85, 75, 65, 55, 45, 35, 25, 15, 5, 0, -5, -10, -15 °C). The si(s) curve for -15 °C is shown by a red line (—) and by black lines (—) for the other temperatures.



図4:95°C~−15°Cの純水の動径分布関数(RDF). RDFの 変化の順は測定温度変化の順(95,85,75,65,55,45, 35,25,15,5,0,-5,-10,-15°C)と一致してい る.-15°Cの RDF は赤色線(一),他は黒色線(一)で示 されている.

Figure 4: Radial distribution functions (RDF) of pure water at 95 °C ~ -15 °C. The sequence of the change of RDFs is the same as that of observed temperatures (95, 85, 75, 65, 55, 45, 35, 25, 15, 5, 0, -5, -10, -15 °C). The RDF for -15 °C is shown by a red line (—) and by black lines (—) for the other temperatures.



図5:代表的温度(95,25,0,-15°C)における純水の動 径分布関数(RDF).

Figure 5 : Radial distribution functions (RDFs) of pure water at some typical temperatures (95, 25, 0, and -15 °C).

分に対応させることができる.Narten らの4℃の水の X線散乱データ^{3,4)}を再解析して RDF を求めると, ~11 Å 付近に類似のピークが出現することも示されてい る¹⁰⁾.

最近, Congcong Huangらは, 7, 25, 66°Cの水に 対する放射光X線回折により得た RDF に,高温まで類 似のピークが~9Åと~11Åに存在することを報告し ている¹¹⁾.本稿の図4,5の RDF でも,高い温度まで これらのピークの存在が認められる.~10.8Åのピー クはピーク位置が一定のまま~55°Cまでその存在が確認 できる.~8.8Åのピークは温度上昇に伴い弱まり, 25°Cでは消滅している.~8.8Åのピークの衰退と入れ 代って9.2~9.3Åのピークが成長する(ピークの高さ が最高となる95°Cでは~9.3Å).0~15°Cの温度がそ の中間的状態と考えられる.また,RDF を注意深く調 べると,~10.8Åのピークより更に長距離の12.9~ 13.5Å領域に非常に弱いピークが高温(~65°C)まで 存在するように見える.

実測 RDF のピークの高さの誤差は $D(r)-4 \pi r^2 \rho_0$ の 誤差による±4 e²Å⁻¹ 程度である(後出の図 25 からも推 測できる).本稿における RDF のピークについての議 論はこの誤差を考慮した上で行う.

次の4章では、まず、低温とくに過冷却温度における RDF にどのような水の構造が反映されているかを明ら かにするため、各ピークがより明確な-15℃の過冷却水



図 6: -15° Cの純水の si(s) (…) と -15° Cの RDF (図 5) の 8.5~12.7 Å領域の構造が起因する si(s)成分 (一). Figure 6: si(s) of pure water at -15° C (…) and the si(s)component (一) causing the structures in the region of 8.5 ~12.7 Å in RDF at -15° C shown in Fig. 5.

の RDF について解析を行う.

4. -15°Cまでの過冷却水の構造

本章では,種々の水構造モデルを仮定した理論動径分 布関数の計算を行い,-15°Cの過冷却水の動径分布関数 との比較からその液体構造を明らかにする.

4.1 氷 I 様構造の仮定

最初に,Narten ら^{3,4)}が主張していた氷様構造によって過冷却水の RDF を説明できるかどうかを調べる.

1気圧下の氷(I_h)の結晶系は六方晶で,図7のよう に正四面体水素結合のネットワークで構築され,椅子型 と舟型の6員環構造が含まれる.エマルション粒子中に 析出した氷微結晶の -50° Cにおける回折データ(図8) を用いて得られた RDF を, -15° Cの過冷却水の RDF と比較して図9に示す.氷結晶は規則性が高いことか ら,液体水に比べ RDF 中のピークや谷は鋭く,その高 さや深さは大きく,距離の増大に伴う減衰の程度も小さ いが,ピークや谷の位置,ピークの高さの相対的関係か ら相互の類似性を判断することができる.

過冷却水の RDF と氷 I_h の RDF を比較すると、次の
 4 つの点に大きな相違が見られる.

- 実測の RDF のピーク3(6.82 Å)に対応するもの として氷 I_n では~6.5 Å にピークが存在する.しか し、このピークを含む領域が全体的に低く、その様子 は過冷却水の RDF と大きく異なる.
- ※ I_hの RDF の 7.9~9.2 Å の幅広いピークは,過 冷却水のピーク4(~8.8 Å)とは様子が大きく異なる.
- 3 過冷却水のピーク5(~10.8 Å)の位置に、氷 I_h ではピークはなく、逆に谷が存在する.
- ④ 過冷却水の~12 Å の谷の位置に、氷 I_h ではピーク が存在する.

最近接水分子間距離(a₀)を2.82Åとし,氷I_h構造



図7:氷 I_h構造.六方晶で,それぞれの水分子は4個の水分子(正四面体の各頂点に位置する)と水素結合し,椅子型と 舟型の6員環をもつ.青丸(●)は水分子の酸素原子(水素 原子は省略).

Figure 7 : Ice- I_h structure, being hexagonal, where each water molecule is linked by hydrogen bond to four water molecules situated at corners of a regular tetrahedron and there exist six-membered rings of water molecules having chair and boat forms. Blue circles (\bigcirc) indicate oxygen atoms (hydrogen atoms are abbreviated).



図8:氷微結晶(氷 I_n構造)が粒子中に析出したエマルショ ンの-50°CにおけるX線回折プロフィール(一).破線(…) はエマルションを構成している有機物質部分による回折. Figure 8:X-ray diffraction profile of emulsions including fine crystal ice of ice-I_n structure at -50 °C (一). Dashed line (…) shows the diffraction due to the organic sub-

stances constructing the emulsions.

に従って水分子を配置し、その座標をもとに理論計算した結果を図 10 に示す.理論 RDF は 20 Å 以上の距離まで全ての水分子間相互作用について計算を行うことにより求めた. ピークの形状は仮定された根平均二乗変位(σ)の値に依存して変化するが、ピーク位置は大きくは変化していない.また、 σ の値が小さくなると理論RDFの形状は図 9 の実測の氷 I_h の RDF の形状に近づくことが分かる.理論 RDF と過冷却水の RDF との相違については上述の氷 I_h の場合と同様のことが言える.



図9:-15℃の過冷却水のRDF(一)と-50℃の氷結晶 (氷I_h構造)のRDF(一).氷結晶のRDFのスケールは 2/3に縮められている.

Figure 9: RDF (—) of supercooled water at -15 °C and RDF (—) of crystal ice (ice-I_h structure) at -50 °C of which scale is reduced to 2/3.

図 10 には Narten ら^{3,4)}が提出した貫入モデル(氷 I_h 構造の隙間に水素結合していない水分子が入り込んだモ デル)を考慮した理論 RDF も示されている.この計算 は,図7の5個の6員環に囲まれた各空隙の中心(椅子 型6員環の中心を貫く C_3 軸上にあり,6員環の水分子 までの距離は3.01 Å あるいは3.55 Å)に水分子を 0.30 個ずつ(液体水と同程度の密度にするため)配置 して行った.この理論 RDF は5~10 Å 領域の様子が変 化し,上記の②の相違は改善されるが,他の相違につい ては変わらない.

以上の結果から,氷 I_h構造あるいはその類似構造で は−15℃の過冷却水の RDF を説明することはできない と言える.

4.2 正 12 面体水素結合クラスターの仮定

過冷却水中にクラスレート様構造が存在するという主 張^{13,14)}があることを考慮し、クラスレート様構造の例と して図11(右)の構造図に示されるような水素結合に より構築された正12面体(A)(20個の水分子で構成 され、12個の正五角形の面をもつ)とその会合体(B ~E)のクラスターを仮定した.氷様構造との基本的違 いは、椅子型や舟型の6員環構造は含まれなく、正五角 形の5員環構造が基本単位となっていることである.

理論計算は、最近接水分子間距離(a_0)を2.82Å (-15°CのD(r)のピーク解析による値)とおいて行っ た.得られた動径分布関数は図11(左)に $D_{th}(r)$ とし て示す.正12面体の会合体(B~E)を仮定したとき、 実測のRDFの~10.8Å(ピーク5)に近い10.6~10.9 Åにピークが出現し、C~Eの会合体では~8.8Å (ピーク4)に近い8.9~9.0Åにもピークが出現して いる、実測のピーク2(4.54Å)とピーク3(6.82Å) に対応する理論ピークは、それぞれ、~4.6Åと~6.6



図 10: 氷 I_h 構造(黒色線)あるいは貫入モデル(青色線) を仮定した理論 RDF と -15° Cの過冷却水の RDF(-)の 比較. 理論 RDF は, $a_0=2.82$ Å($\sigma=0.16$ Å)とおき, r>2.82 Åに対し $\sigma=0.4$ Å(黒色あるいは青色の実線)あるい は $\sigma=0.6$ Å(黒色あるいは青色の破線)と仮定して計算さ れた.

Figure 10 : Comparisons of theoretical RDFs on the assumptions of ice-I_h structure (black lines) or the interstitial model (blue lines) with the RDF of supercooled water at -15 °C (—). The theoretical RDFs were calculated by assuming $a_0=2.82$ Å ($\sigma=0.16$ Å) and $\sigma=0.4$ Å (black or blue solid lines) or 0.6 Å (black or blue dashed lines) for r>2.82 Å. Å に現れている. ピーク3は, 正12 面体の単体構造 (A) に対しても存在することから, 正12 面体構造に特 徴的なピークであると考えられる. このように, 正12 面体とその会合体のクラスターを仮定することにより実 測ピークをほぼ説明できることから, 低温の液体水中に この種のクラスレート様構造が形成されていることが示 唆される.

実測の RDF の全体説明には、クラスター内の相互作 用以外に、周辺水分子との相互作用や他の水分子間相互 作用も考慮する必要がある.次節では、クラスレート様 構造をもつガスハイドレートの結晶構造から類推される 水素結合ネットワークを仮定して理論計算を行い、過冷 却水の RDF との比較検討を行う.

4.3 ガスハイドレート I 型構造の水素結合ネットワー クの仮定

正12 面体の会合構造が含まれる水素結合ネットワー クを有す代表的結晶としてガスハイドレートの結晶があ る.メタンハイドレート等の結晶は I 型構造をもつ.図 12 に I 型構造における水分子の水素結合ネットワーク を示す.このネットワーク中には図 11 の B に相当する



図 11: 正 12 面体およびその会合体の構造をもつ水素結合クラスター(右図のA ~ E) に対する理論動径分布関数 $D_{th}(r)$ (左図の実線).右図における青丸(\bullet) は水分子の酸素原子(水素原子は省略).左図の $D_{th}(r)$ は、 $a_0=2.82$ Å($\sigma=0.16$ Å)とおき、r>2.82 Åに対し $\sigma=0.4$ Åとし計算された.破線(…)はクラスター内のおよその平均電子密度分布.

Figure 11: Theoretical radial distribution functions, $D_{\rm th}(r)$, (solid lines in leftside figures) for hydrogen-bonded clusters having the structures of dodecahedron and its aggregates (A~E of right-side figures). Blue circles (\bigcirc) in right-side figures indicate oxygen atoms (hydrogen atoms are abbreviated). $D_{\rm th}(r)$ s in left-side figures were calculated by assuming $a_0 = 2.82$ Å ($\sigma = 0.16$ Å) and $\sigma = 0.4$ Å for r > 2.82 Å. Dashed lines (...) correspond to the mean electron density distributions, roughly estimated. 会合構造が含まれている. I 型構造の単位立方格子の中 心には, 正 12 面体が存在し, 互いに直交する 3 本の C_2 軸が単位格子の面の中心に直交する配置をとっている. この C_2 軸の周りに 90°回転した配置をとる正 12 面体が 単位格子の 8 つのコーナーに(単位格子当たり 1 個)存 在し,中心の正 12 面体と水素結合で結ばれている.ま た,6 個の単位格子面上に水分子(W_F)が 2 個ずつ合 計 12 個(単位格子当たり 6 個)存在し,それぞれ隣接 する 4 個の正 12 面体の水分子(W_{12B})と水素結合して いる.従って,正 12 面体を構成する 20 個の水分子のう ち 8 個の水分子(W_{12A})は隣接の正 12 面体の水分子 (W_{12A})と, 12 個の水分子(W_{12B})は単位格子面上の 水分子(W_F)と水素結合により結ばれている.

単位格子当たりの水分子数は,正12 面体(2個)を 構成する40個と格子面上の6個の合計46個であるが, 水分子 W_{12A}, W_{12B}, W_Fの周辺環境は同じではなく, それぞれの水分子を中心とする動径分布関数 (RDF_{W12A}, RDF_{W12B}, RDF_{WF})は互いに異なる.水分 子1個当たりに平均化された動径分布関数は,(16 RDF_{W12A}+24 RDF_{W12B}+6 RDF_{WF})/46 と見なすことが できる.

正12 面体内の隣接水分子間(最近接水分子間)距離 を a_0 (2.820Å)とし,隣接の正12 面体の間を水素結合 で結ぶ水分子間($W_{12A} - W_{12A}$ 間)の距離は a_0 と同じ と仮定した.このとき, $W_{12B} - W_F$ 間の距離は1.069 a_0 (3.015Å)となり,単位立方格子の一辺の長さ(l)は $l=4.391 a_0$ (12.38Å),水素結合で直接結ばれた2つの 隣接正12 面体の中心間距離は3.803 a_0 (10.72Å)とな る(この距離はピーク5の~10.8Åに近い).また,1 個の水分子を含む平均体積(V)は41.27Å³,密度は 0.725g cm⁻³と見積もられる.

I型構造中には正12面体のほかに14面体(8個の W_{12A} , 12個の W_{12B} , 4個の W_F で構成される)が単位 格子当たり6個存在する.この14面体は,正五角形 (→ $W_{12A}-W_{12B}-W_{12A}-W_{12B}-W_{12B}$ →)(矢印は両端 の水分子が繋がっていることを意味する)4個(正12 面体との共有),五角形(→ $W_F-W_{12B}-W_{12A}-W_{12A}$ - W_{12B} →)8個,六角形(→ $W_F-W_{12B}-W_{12B}-W_F$ -



図 12: ガスハイドレート I 型構造中の水分子の水素結合ネットワーク. 青丸(\bigcirc) は水分子の酸素原子(水素原子は省略). 赤色線(-) は正 12 面体内の水分子間($W_{12A} - W_{12B}$ 間および $W_{12B} - W_{12B}$ 間), 黄色線(-) は隣接する正 12 面体間を結ぶ水分子間($W_{12A} - W_{12A}$ 間), 緑色点線(\cdots) は W_{12A} と正 12 面体外の水分子(W_F)間の水素 結合を示す. 橙色点線(\cdots) で囲まれた部分は単位立方格子を示す. Figure 12: Hydrogen-bonded network of water molecules in the

gas-hydrate structure of type I. Blue circles (\bigcirc) indicate oxygen atoms (hydrogen atoms are abbreviated). Hydrogen bonds are shown by red lines (—) between water molecules inside dodecahedra (between $W_{12A} - W_{12B}$ or $W_{12B} - W_{12B}$), by yellow lines (—) between adjacent dodecahedra (between $W_{12A} - W_{12A}$), by green dotted lines (…) between W_{12A} and W_F located outside dodecahedra. The square surrounded by orange dotted lines (…) indicates the cubic unit cell. $W_{12B} - W_{12B} \rightarrow) 2 個 (六角形の二つの面は互いに平行) の合計 14 個の面で構成される.密度が 0.725 g cm⁻³ と 低いのは主として多面体ケージ内が空隙であることによる.$

I型構造の骨格水分子の水素結合ネットワークを仮定 して得られた理論 RDF (σ =0.6 Å の場合)を図 13 に 示す. -15[°]Cの実測の RDF のピーク 1~3 だけでなく ピーク 4 と 5 の位置近くにも理論ピークが出現している ことが分かる.図 13 には、4.6 節で述べるガスハイド レート II型構造の水素結合ネットワークを仮定した理論 RDF も示してあるが、この場合もほぼ同様のことが言 える.しかし、ピーク形状についてはいずれも十分とは いえない.例えば、ピーク 2 とピーク 3 の高さの順は、 ピーク 2 が低すぎ、実測における順と逆になっている. これは、多面体ケージ内が空隙であることと関係があ る.次節では、この多面体ケージ中に水分子を配置した Pauling モデル¹²)を仮定して理論 RDF を求める.

4.4 Pauling モデルの仮定

Pauling¹²⁾は、前述のガスハイドレート I 型構造の水 素結合ネットワーク中の全ての正 12 面体と 14 面体の ケージの中心に水素結合していない水分子を 1 個ずつ配 置した水構造モデル(図 14A)を提出した.Pauling モデルでは、単位格子当たり、正 12 面体(2 個)と 14 面体(6 個)の合計個数に相当する 8 個の水分子が増え るため、全部で水分子は 54 個になる(周辺環境が異な る水分子は 5 種類).最近接水分子間距離(a_0)を 2.82 Åとすると、水分子 1 個を含む平均体積(V)は 35.15 Å³、密度は 0.851 g cm⁻³となる.一方、Pauling は a_0 を 2.76 Å、単位格子の一辺の長さ(l)を 11.82 Åと記



図 13: ガスハイドレートの I 型構造(一) あるいは II 型構 造(一) における多面体を構成する水分子の水素結合ネット ワークを仮定した理論 RDF と -15° Cの過冷却水の RDF (一)の比較.理論 RDF は, $a_0 = 2.82$ Å($\sigma = 0.16$ Å)とお き, r > 2.82 Å に対し $\sigma = 0.6$ Å と仮定して計算された.

Figure 13: Comparisons of theoretical RDFs on the assumptions of hydrogen-bonded network of water molecules constructing polyhedra in the gas-hydrate structure of type I (—) or type II (—) with the RDF of supercooled water at -15 °C (—). The theoretical RDFs were calculated by assuming $a_0 = 2.82$ Å ($\sigma = 0.16$ Å) and $\sigma = 0.6$ Å for r > 2.82 Å.

述している¹²⁾. しかし, 2.76 Å は液体水では短すぎ, また, lについては $a_0 = 2.76$ Å から計算される 12.12 Å (3.803 a_0) に比べ 0.3 Å 短い. これらのことから,本 研究における Pauling モデルに基づいた理論計算は, Pauling の論文中¹²⁾の数値は用いないで, 4.3 節で与え た構造座標を用いて行った.

 a_0 を2.82Åとすると、図14に示される正12面体の 中心の水分子 a (W_a)から周りの正12面体構成水分子 (W_{12A} あるいは W_{12B})までの距離は3.95Å,14面体 の中心の水分子 b (W_b)から周りの14面体構成水分子



図 14: Pauling モデル(A)と改良 Pauling モデル(B). 青丸(●) は多面体の骨 格水分子の酸素原子,緑丸(●) はガスハイドレート I 型構造に含まれる多 面体ケージ内に配置した水分子の酸素原子(水素原子は省略).水分子 a は 正 12 面体の中心, b は 14 面体の中心, c は 6 角形平面の中心に位置する. Figure 14: Pauling's model (A) and modified Pauling's model (B). Blue circles (●) indicate oxygen atoms of water molecules constructing frameworks of polyhedra and green circles (●) indicate oxygen atoms of water molecules placed in the cages of polyhedra in the gas-hydrate structure of type I (hydrogen atoms are abbreviated). Water molecules of a, b, and c are placed in the center of dodecahedron, tetrakaidecahedron, and hexagonal plane, respectively.

までの距離は4.22 Å(8 個の W_{12B}),4.82 Å(4 個の W_{12B}),4.38 Å(4 個の W_F),4.60 Å(8 個の W_{12A})となる.このように、ピーク2の領域である4~5 Åの水分子間相互作用が増加するため、図13に示される理論 RDF が改善されることが予想される.

実際に、Pauling モデルを仮定して得られた理論 RDFを図 15 に示す. 12 Å 以内に現れた 5 つの理論 ピークの距離は、2.83、4.55~4.51、6.84~6.99、 8.70~8.45、10.8~10.9 Å(σ =0.4~0.6 Å に対応)で あり、いずれも -15° Cの過冷却水の RDF のピーク距離 (2.83、4.54、6.82、~8.8、~10.8 Å) に近く、とく に、 σ =0.4 Åのときの一致は良い.

Pauling モデルを仮定したとき,密度は 0.851 g cm⁻³ となるが, -15°Cにおける過冷却水の密度 (0.996 g cm⁻³)²⁰⁾に比べまだかなり低い.単位格子当たりの水素 結合数は 92本(正 12 面体内 60本,正 12 面体間 8本, W_F水分子が関わる 24本)であるので,1 個の水分子 の水素結合の手の平均は 3.41 (=2×92/54)本となる. Pauling モデルでは 2.82 Å の次の水分子は 3.95 Å であ るため近傍の水分子は平均 3.4 個(平均配位数)とな り,約 4.4 個という実測の動径分布関数のピーク 1 の解 析から得られる個数(ピーク幅があるため 3.1 Å 近く の水分子まで含まれる)よりかなり少ない.これらのこ とは,Narten ら³⁾によっても指摘されている.次節で は,Pauling モデルにおける問題点を改善するため,多 面体ケージ中の水分子を増やした改良モデルを仮定して 理論計算を行う.

4.5 改良 Pauling モデルの仮定

本研究では、4.4節の Pauling モデルで仮定された多



図 15: Pauling モデルを仮定した理論 RDF と -15° Cの過冷 却水の RDF (一)の比較.理論 RDF は, $a_0 = 2.82$ Å ($\sigma = 0.16$ Å)とおき,r > 2.82 Åに対し $\sigma = 0.4$ Å (一), 0.5 Å (一)あるいは 0.6 Å (一)と仮定して計算された.

Figure 15 : Comparisons of theoretical RDFs on the assumption of Pauling's model with the RDF of supercooled water at -15 °C (—). The theoretical RDFs were calculated by assuming $a_0 = 2.82$ Å ($\sigma = 0.16$ Å) and $\sigma = 0.4$ Å (—), 0.5 Å (—) or 0.6 Å (—) for r > 2.82 Å. 面体ケージ中の水分子の位置を変えないで,図 14 B の ように 14 面体の六角形の平面の中心に水分子 c (W_c) を 1 個ずつ追加配置したモデルを仮定して計算を行っ た.14 面体の 2 個の六角形の面は 2 個の 14 面体で共有 されているため単位格子当たり 6 個の水分子 (W_c)が 加わったことになり,水分子は全部で 60 個となる. 従って,最近接水分子間距離 (a_0)を 2.82 Å としたと き,体積 V は 31.64 Å³,密度は 0.946 g cm⁻³となる. 水分子 (W_c)から周囲の六角形構成水分子までの距離 は 2.87 Å(4 個の W_{12B})および 3.10 Å(2 個の W_F), 14 面体の中心の水分子 (W_b)までは 3.10 Åである. また,1 個の水分子から 3.1 Å 以内に存在する平均の 水分子数 (平均配位数) は 4.67 となる.密度と平均配 位数は実測値と完全には一致しないが,Pauling モデル に比べ大幅に改善されていると言える.

理論計算は、 $a_0 & 2.82$ Åとし、r > 3.10Åの水分子 間相互作用に対し3種類の σ の値を仮定して行った. 得られた理論 RDF を図16に示す.出現した12Åまで の理論ピークの位置は、2.83、4.59~4.56、6.82~ 6.90、8.85~8.75、10.9Å(σ =0.4~0.6Åに対応)と なり、 -15° Cの過冷却水の RDF のピーク位置をよく再 現することができる.

ピークの高さや谷の深さについては、他のモデルの場 合でも見られたように、距離rが長くなるにつれ、実 測 RDF と理論 RDF の間に開きが増している.その理 由の一つとして、理論 RDF では、並進運動による位置 の不確かさは根平均二乗変位(の)を通してのみしか考 慮されていないことが挙げられる.こののの値は距離 rの増大に伴い大きくすることが必要と考えられるが、



図 16: 改良 Pauling モデルを仮定した理論 RDF と -15° Cの 過冷却水の RDF (一)の比較. 理論 RDF は, $a_0=2.82$ Å ($\sigma=0.11$ Å)とおき, 2.82 Å< $r\leq3.10$ Åに対し $\sigma=0.35$ Å, r>3.10 Åに対し $\sigma=0.4$ Å (一), 0.5 Å (一) あるいは 0.6 Å (一)と仮定して計算された.

Figure 16 : Comparisons of theoretical RDFs on the assumption of the modified Pauling's model with the RDF of supercooled water at -15 °C (—). The theoretical RDFs were calculated by assuming $a_0 = 2.82$ Å ($\sigma = 0.11$ Å), $\sigma = 0.35$ Å for 2.82 Å $< r \le 3.10$ Å, $\sigma = 0.4$ Å (—), 0.5 Å (—), or 0.6 Å (—) for r > 3.10 Å.

計算が膨大になり複雑化し任意性も大きいこと,構造の 判断にはピーク位置の再現が最も重要であることから, 本研究では便宜的に σ の値を距離rに無関係に一定と して計算を行った.仮定された σ の値に対する理論 ピークの高さの変化の様子は図16に示されている (ピーク位置の変化は小さい).

ピークの高さに対する補正方法として,得られた理論 RDF に減衰関数 f(r)を掛ける方法を試みた.その際, f(r)は,実測 RDF と理論 RDF の各ピークや谷の高さ や深さの比をフィットする経験的な関数として求めた. 図 17 に示した σ =0.6 Åに対する結果から分かるよう に,理論 RDF のピークの高さは,単調な減衰関数 f(r)を用いて実測 RDF によく一致させることができる.こ こで,f(r)の物理的意味について考えてみる.一つは上 で述べた σ の値を一定にしたことに対する補正,もう 一つは,構造性集団 (クラスター)の分布数に対する補 正である.例えば,図 16 において, σ の値だけで実測 のピーク 5 の高さが低いことを説明するには無理があ り,水中に種々の大きさのクラスターが存在し,その数 がサイズの増大に伴い減少することが f(r)に反映され



図 17: 理論 RDF(一) に減衰関数f(r)を掛けて得られる RDF(一) と-15°Cの過冷却水の RDF(一)の比較. 理論 RDF(一) は図 16 に示された改良 Pauling モデルによる理 論 RDF(r>3.10 Åに対し $\sigma=0.6$ Åを仮定). f(r)は挿入 図に示されており, $r\leq 2.82$ Åのときf(r)=1, r>2.82 Å のとき $f(r)=(1+ar+br^2+cr^3)^{-1}(a=0.07677$ Å⁻¹, b=-0.05905 Å⁻², c=0.01129 Å⁻³).

Figure 17 : Comparison of the RDF (—) obtained by multiplying the theoretical RDF (—) by the attenuation function f(r) with the RDF of supercooled water at -15 °C (—). The theoretical RDF (—) is the same as that of the modified Pauling model (assuming σ =0.6 Å for r>3.10 Å) shown in Fig. 16. The inset shows the figure of f(r): f(r)=1 for $r\leq 2.82$ Å and $f(r)=(1+ar+br^2+cr^3)^{-1}$ for r>2.82 Å where a=0.07677 Å⁻¹, b=-0.05905 Å⁻², c=0.01129 Å⁻³.

る可能性があることも考える必要がある.これは,f(r)を通してクラスターの大きさのおよその分布を見積もることができる可能性を示すが, σ の値が特定できないため任意性が大きい.

4.3~4.5節で仮定されたガスハイドレート I 型構造 の水素結合ネットワークには図 11(右)のC~Eに示 される正 12面体の面を共有する会合構造は存在しない. 図 11(左)の $D_{th}(r)$ に示されるように,これらの会合 構造をもつクラスターを仮定しても実測の RDFのピー クをほぼ説明できることを考慮し,次節ではC~Eの会 合構造が含まれるガスハイドレート II 型構造の水素結合 ネットワークを仮定した理論計算を行う.

4.6 ガスハイドレート II 型構造の仮定

ガスハイドレート II 型構造の水素結合ネットワーク (図 18) には、図 11 (右)のBに代わってC~Eに相当 する正 12 面体の会合構造が含まれ、4 つの六角形の面 をもつ 16 面体も存在し、単位立方格子当たり水分子 136 個、正 12 面体 16 個、16 面体 8 個が含まれる²⁵⁾. II 型構造の水素結合ネットワークを仮定した理論計算は、 II 型構造をもつ硫化水素・テトラヒドロフラン水和物 (16 H₂S・8 C₄H₈O・136 H₂O)の結晶中の水分子の座 標²⁶⁾を用い、最近接水分子間距離(a₀)が平均 2.82 Å になるよう座標を換算して行った.このとき、単位格子 の一辺は 17.51 Å となる.

理論計算は,I型構造に対して行ったと同様,まず, 多面体ケージ中に水分子が存在しないII型構造の骨格水 分子の水素結合ネットワークのみを仮定して行った(体



図18:ガスハイドレートⅡ型構造における水分子の水素結 合ネットワーク.青丸(●)は水分子の酸素原子(水素原子 は省略).

Figure 18 : Hydrogen-bonded network of water molecules in the gas-hydrate structure of type II. Blue circles (\bigcirc) indicate oxygen atoms (hydrogen atoms are abbreviated).

積 V は 39.46 Å³,密度は 0.758 g cm⁻³).得られた理 論 RDF は図 13 に示されている.出現したピーク 1~3 に対応する理論ピークは I 型構造を仮定した場合とほぼ 一致しているが,ピーク 4 と 5 についてはその位置と ピーク形状に違いが見られる.また,12.8 Å にも大き なピークが出現している点で異なる.しかし,12 Å ま での 5 つのピークは,いずれも実測の RDF のピーク位 置近くに現れていると言える.

次に, Pauling モデルと同様, 多面体(正12面体と 16面体)ケージの中心に1個ずつ水分子を配置したモ デル(II-A)を仮定し理論計算を行った.この場合, 単位格子当たりの水分子は160個で,体積 V は33.54 Å³,密度は0.892g cm⁻³,水分子の平均配位数は3.4 となる.もう一つのモデルとして,改良 Pauling モデ ルで行ったように,六角形の面(16面体の4つの面) の中心に1個ずつ水分子を追加配置したモデル(II-B) を仮定した.この場合,単位格子当たりの水分子は176 個,V は30.49 Å³,密度は0.981g cm⁻³,水分子の平 均配位数は4.18 となる.

モデルII-AとII-Bを仮定した計算から得られた理論 RDFを図 19 に示す. 12 Åまでの理論ピークは、モデル II-A では、2.83、4.50~4.43、6.67~6.81、8.90~ 8.85、10.7 Å(σ =0.4~0.6 Åに対応)、モデル II-B で は、2.83、4.55~4.48、6.64~6.80、8.90~8.83、10.7 Å(σ =0.4~0.6 Åに対応)となり、I型構造を仮定し た場合とほぼ同様、 -15° Cの過冷却水の RDF の各ピー クの位置を再現することができる.

4.7 −15℃までの過冷却水中の水素結合構造の描像

過冷却水(0~-15℃)の RDF のピークは,高さに 違いはあるが,温度が変わってもピークの位置や形状は ほとんど変わらないことから,各構造モデルに基づいた 理論 RDF との比較の結果は,-15℃までの過冷却水に 対して共通と言える.

4.1~4.6節で得られた結果は以下のようにまとめる ことができる.

- ① 過冷却水の RDF を説明するには、水素結合構造の 基本単位として、氷 I_h構造に含まれる椅子型や舟型 の6員環水素結合構造ではなく、ガスハイドレート構 造等に含まれる正五角形の5員環水素結合構造を考え る必要がある。
- ② 過冷却水中に正五角形や平面六角形を含む多面体 ケージを含むクラスレート様構造が存在する。
- ③ RDFの~10.8 Å 等の長距離ピークを説明するには、正12面体とその会合構造をもつクラスターや、これらを含む水素結合のネットワーク構造を考える必要がある。
- ④ ガスハイドレート結晶に含まれる水素結合のネット ワークを仮定すると、実測の RDF のピークの位置を

よく説明することができる.このネットワークは,I 型構造でもII型構造でも説明できることから,異なる ネットワーク構造をもつクラスターが混在していると 考えられる.

⑤ I型構造あるいはII型構造に含まれる多面体ケージの空隙中に適切な数の水分子を仮定することにより、 実測の RDF をより良く再現することができ、また、 密度や平均配位数の実測値との一致も良くすることができる。

液体水中の水分子は、ピコ秒オーダーでその位置を移 動し、水素結合の相手も絶えず入れ代っているため、そ の状態は一定ではない、構造モデルで仮定された水分子 の状態も一定ではなく、絶えず他の水分子とその位置や 状態の交換を行っており、多面体ケージ中の水分子も同 じ状態に止まることはない、また、正12面体構造等の 多面体とその会合構造も完全な構造とは限らない、実測 の RDF における距離の増大に伴うピークの高さの減衰 から推測される構造性の急速な低下は、位置の不確かさ の増大(σの値の増大)によるだけでなく、ネットワー ク構造、座標軸、大きさ等が異なるクラスターが多数存 在し、相互の隣接部で構造の連続性が失われることによ ると考えられる.

0~-15°Cまでの液体水中に,正五角形の5員環水素



図 19: ガスハイドレート II 型構造に基づくモデル(II-A および II-B)を仮定した理論 RDF と -15° Cの過冷却水の RDF (一)との比較. 理論 RDF は, $a_0=2.82$ Å ($\sigma=0.16$ Å)とおき, r>2.82 Åに対し $\sigma=0.4$ Å (一), 0.5 Å (一) あるいは 0.6 Å (一)と仮定して計算された.

Figure 19 : Comparisons of theoretical RDFs on the assumption of the models (II-A and II-B) based on the gas-hydrate structure of type II with the RDF of supercooled water at -15 °C (—). The theoretical RDFs were calculated by assuming $a_0 = 2.82$ Å ($\sigma = 0.16$ Å) and $\sigma = 0.4$ Å (—), 0.5 Å (—) or 0.6 Å (—) for r > 2.82 Å.

結合構造を基本単位とする水素結合ネットワークが存在 することは、氷の融解において水素結合構造の再編が起 こることを意味する.液体水中で正五角形構造をとる理 由としては、H₂O-H₂O-H₂O 水素結合角が 109.5°(6員 環構造)より 108°(正五角形構造)の方が H-O-H 結合 角(104.5°)に近く、中央の H₂O が二つの水素原子を 用いて両側の H₂O と水素結合する場合、より直線に近 い水素結合が可能になるためエンタルピー的に有利で、 また、エントロピー的にも5員環形成の方が 6員環形成 より有利であることが挙げられる.

4.8 0℃から沸点近くまでの水中の水素結合構造と ネットワーク形成

図4,図5から分かるように、 -15° Cの RDF に現れ た5つのピークの位置や形は0°Cの RDF でも基本的に は変わらない.また、0°Cより高い温度においても、あ る程度の温度まで幾つかのピークが存在する.RDFの 温度による変化を見るため、85°Cから20°間隔で RDF の差(Δ RDF)をとり図20(5章で説明される -35° C までの Δ RDFを一緒に示してある)に示す.図20の Δ RDFを見ると、それぞれのピーク位置でかなり高い 温度から変化が始まっていることがわかる.3章で述べ たように、ピーク5(\sim 10.8Å)が \sim 55°Cの RDF でも 僅かに存在し、図20の Δ RDF(65°C \rightarrow 45°C)でもその 位置に変化が見られることから、ガスハイドレート様の 水素結合ネットワーク構造がこの温度付近から温度の低 下とともに形成されてくると言える.

水素結合構造の発達度の目安とすることができるピー ク2(4.53~4.56Å)の高さの変化(Δ RDF)が25°C付 近から増大している.この増大は距離の遠いピーク4や ピーク5の成長に大きく関与しており、長距離のネット ワーク形成が温度低下に伴い急速に進んでいることを示 している.これに対して、正12面体構造の形成の目安 となるピーク3(6.82~6.88Å)の変化(Δ RDF)は高 温から過冷却状態の-15°C付近まで大きくは変化してい ないことから、ネットワークの基本構造は温度低下とと もにコンスタントに形成されていると言える.

図4,図5のRDFに見られるように,ピーク3が 95℃においても明確であることは,正12面体の水素結 合構造は沸点近くの温度において既に存在することを示 唆している.しかしながら,95℃ではピーク2の高さが かなり低く,H₂O-H₂O-H₂Oの水素結合角の揺らぎが増 大していると考えられることから,正12面体構造は瞬 間的にはかなり歪んだ構造と思われる.これは,ピーク 3のピーク幅が高温になるにつれ広がっている(図4) ことからも示唆される.正12面体構造が高温でも維持 されているのは水素結合の協同効果によると考えられ る.

以上のように、0℃よりかなり高い温度から、過冷却

水中におけると基本的に同じ水素結合構造が存在し,温 度低下とともに長距離ネットワークが形成されてくると 言うことができる.

5. -35℃付近の過冷却水の構造

5.1 -15~-35℃の過冷却水のX線散乱強度と動径分 布関数の描像

エマルション試料の測定は 0~-35°Cで行った.図 21 に体積比(水:MeC₆H₁₁)が1.7:1の場合の干渉性散 乱強度 $I^{\text{coh}}(s)$ を示す.いずれの温度でもエマルション 中の有機物質部分によるピークが $s\approx$ 1.23Å⁻¹に,ショ ルダーが $s\approx$ 1.51Å⁻¹に存在する. $I^{\text{coh}}(s)$ の温度による 大きな変化は純水の $I^{\text{coh}}(s)$ (図 2)と同様,sの値が ~1.3Å⁻¹より大きい領域で起こっている.有機物質部 分の寄与が大きい~1.3Å⁻¹以下の領域の変化が僅かで あることは、この有機物質部分の温度依存性が小さいこ とを示している.図 21には、 -10° Cのエマルションの $I^{\text{coh}}(s)$ から、エマルション粒子中に含まれる水の $I^{\text{coh}}(s)$ もった有機物質部分の $I^{\text{coh}}(s)$ も示してある.

温度低下に伴いエマルション粒子の一部に不均一核生 成により生じた微量の氷結晶が存在する可能性は否定で きない.氷結晶が存在すれば,図8で示した氷結晶によ る回折ピークが現れると考えられるが,図21のエマル ションの*I*^{con}(s)曲線には該当するピークは見られない.



図 20:85°Cから-35°Cまで,20°低下ごとの液体水の RDF の変化 (ΔRDF).

Figure 20 : Changes of RDFs of liquid water (Δ RDF) for each 20° depression in temperature from 85 °C to -35 °C.

このことをより明確にするため,図 21 の挿入図に, $s=1.3\sim3.5$ Å⁻¹領域について,-20,-30,-35°C と-10°Cの $I^{\text{coh}}(s)$ の差 $\Delta I^{\text{coh}}(s)$ を示し,比較として -50°Cにおける氷微結晶の $I^{\text{coh}}(s)$ (有機物質部分の $I^{\text{coh}}(s)$ は除去されている)を1/100 スケール(水全体の 1%が氷結晶となった場合に相当)に縮小して示す.こ の図を見るとsの変化に対し $\Delta I^{\text{coh}}(s)$ 曲線はいずれも 滑らかに変化しており,また,氷結晶の $I^{\text{coh}}(s)$ と比較 したとき,エマルション粒子の一部に氷結晶が生じたと しても全体の 0.1%以下であり,以下の取り扱いでは無 視して考えることができる.

エマルションの $I^{\text{con}}(s)$ から得られた RDF_{em} を図 22 に示し、 -10° Cあるいは 0 °Cの RDF_{em} から 2.2.1 項で 述べた方法により求めた有機物質部分の RDF_{org} を図 23 に示す.図 23 に示されるように、二つの温度で得ら れた RDF_{org} の違いはノイズレベル以下で、0 °Cの RDF_{em} から -10° Cの RDF_{org} を差し引いて得られるエ マルション粒子中の水の RDF は 0 °Cの純水の RDF と ほとんど一致している.この結果に基づき、RDF_{org} は



図 21:体積比 (H₂O:MeC₆H₁₁) が 1.7:1 のエマルショ ンの 0°C~-35°Cにおける干渉性散乱強度 $I^{\text{coh}}(s)$. $I^{\text{coh}}(s)$ 曲線の変化の順は測定温度変化の順 (0, -10, -20, -30, -35°C) と一致している. -35°Cの $I^{\text{coh}}(s)$ 曲線は赤 色線(一),他は黒色線(一)で示されている.緑色線(一) は有機物質部分の $I^{\text{coh}}(s)$ で, -10° Cの過冷却純水の $I^{\text{coh}}(s)$ (-)を用いて見積もられた.挿入図の $\Delta I^{\text{coh}}(s)$ はs=1.3~3.5Å⁻¹領域の-20, -30, -35°Cの $I^{\text{coh}}(s)$ と-10°C の $I^{\text{coh}}(s)$ との差で,破線(…)は 1/100のスケールに縮小 した-50°Cの氷微結晶(氷 I_h構造)の $I^{\text{coh}}(s)$ (有機物質部 分の $I^{\text{coh}}(s)$ は除かれている)に相当する.

Figure 21 : Coherent scattering intensities, $I^{\text{coh}}(s)$, of emulsions of volume ratio (H₂O:MeC₆H₁₁) of 1.7:1 at 0 °C~ -35 °C. The sequence of the change of $I^{\text{coh}}(s)$ curves is the same as that of observed temperatures (0, -10, -20, -30, and -35 °C). The $I^{\text{coh}}(s)$ curve for -35 °C is shown by a red line (-) and by black lines (-) for the other temperatures. The green line (-) is the part of $I^{\text{coh}}(s)$ due to the organic substances, estimated by use of $I^{\text{coh}}(s)$ of pure water in the supercooled state at -10 °C (-). In the inset $\Delta I^{\text{coh}}(s)$ are differences of $I^{\text{coh}}(s)$ of -20, -30, and -35 °C with that of -10 °C, and dashed line (--) corresponds to $I^{\text{coh}}(s)$ of fine crystal ice of ice-I_n structure at -50 °C, reduced to a scale of 1/100 after $I^{\text{coh}}(s)$ due to the organic substances is removed. 温度に依存せず一定と仮定し、それぞれの温度における RDF_{em}から -10° Cの RDF_{org}を差し引くことにより -35° Cまでの過冷却水の RDFを求めた.こうして得ら れた RDF がエマルションの組成によって異なることは なかった.

図 24 に-10°Cから-35°Cまでの RDF を示す. ここ で,-20,-30,-35°Cの RDF はエマルションの測定 から得られた複数の RDF の平均として示されている. RDF のピークの温度低下に伴う変化を以下に記述する. ピーク1の位置は短距離側に僅かにシフトし、-35℃で は~2.80 Åとなる. ピーク2(4.54 Å)の高さは高く なり水素結合構造の更なる発達を示している. ピーク 3 (6.82 Å) は他のピークと異なり-20°C以下ではほと んどその高さに変化がない. ピーク4(-15°Cでのピー ク位置は~8.8Å)は、-35℃に近づくにつれ~8.5Å 付近が強まっていく傾向を示している.これは、ピーク 3と4の間の谷(~8Å)の深さが変化していないこと とも関係している. ピーク5 (~10.8 Å) は徐々に成長 しているが、ピーク4とは反対に次第に長距離側へ中心 位置がシフトして行く傾向を示している. このシフトと 関係して, ~12Åの谷の深さに変化がない. 一方, ピーク4と5の間の谷(~9.6Å)が深くなっているの は、この二つのピークが互いに離れていくことと対応し ている.図25に全測定温度範囲(95~-35°C)におけ るピーク2~5の高さの変化(-15°Cのときのピーク位 置の距離 r における変化)の詳細を示す.



図 22:体 積 比($H_2O:MeC_6H_{11}$)が1.7:1(-)と1:1 (-)のエマルションの0~-35°Cにおける RDF_{em}(水分子 1個を含む平均体積当たりに換算されている).

Figure 22 : RDF_{em} of emulsions of volume ratios (H₂O: MeC₆H₁₁) of 1.7:1 (—) and 1:1(—) at $0 \sim -35$ °C, normalized to RDF_{em} for an average volume containing one water molecule.



図 23:体積比($H_2O: MeC_6H_{11}$)が1.7:1のエマルション の RDF_{em}(-)と有機物質部分の RDF_{org}(-).赤色線 (-)は純水の RDF.緑色線(-)は -10° Cの RDF_{org}を用 いて得られた 0° Cのエマルション中の水の RDF.いずれも 水分子1個を含む平均体積当たりに換算されている.

Figure 23 : RDF_{em} (—) of emulsions of volume ratio (H₂O: MeC_6H_{11}) of 1.7:1 and RDF_{org} (—) due to the part of the organic substances. The red lines (—) are RDFs observed for pure liquid water. The green line (—) indicates RDF of water in emulsions at 0 °C estimated by use of RDF_{org} obtained from RDF_{em} at -10 °C. RDF_{em} and RDF_{org} are normalized to those for an average volume containing one water molecule.



図 24: −10~−35°Cの過冷却水の動径分布関数 (RDF). −10°C (−)の RDF は純水の測定から得られ, −20°C (−), −30°C (−), −35°C (−)の RDF はエマルション の測定から得られた.

Figure 24 : Radial distribution functions (RDF) of supercooled water at $-10 \sim -35$ °C. The RDF at -10 °C (—) was obtained from the measurement for pure water and RDFs at -20 °C (—), -30 °C (—), -35 °C (—) were obtained from the measurements of emulsions.

5.2 水素結合構造の変化と氷 | 様構造をもつクラス ターの生成

図 20,24,25から分かるように、ピーク2の成長か ら-35°Cに近づくにつれ水素結合構造が一層発達してい ることは明らかであるが、ピーク3の成長が見かけ上止 まり、ピーク4と5の位置が変化しつつあることは、 -15°Cまでのガスハイドレート様構造の成長だけでは説 明できなく、異なるタイプのネットワーク構造の生成を 伴っていることが示唆される.

図 20 に示されるように, -15℃から-35℃への温度



図 25:液体水の RDF のピーク 2 ~ 5 の高さの温度による変 化.距離 r=4.54, 6.82, 8.8, 10.8 Å は,それぞれ, -15°Cにおけるピーク 2,3,4,5のピーク距離に相当す る.

Figure 25 : Changes of peak heights for Peak $2\sim5$ in RDFs of liquid water with temperature change. Distances of 4.54, 6.82, 8.8, 10.8 Å for *r* correspond to the peak distances of Peak 2, 3, 4, 5, respectively, at -15 °C.

変化に対する ΔRDF が, $-15^{\circ}C$ までの ΔRDF の形と大 きく異なる. 図 26 を見ると, $\Delta RDF(5^{\circ}C \rightarrow -15^{\circ}C)$ と $\Delta RDF(25^{\circ}C \rightarrow 5^{\circ}C)$ は形が似ているのに, ΔRDF ($-15^{\circ}C \rightarrow -35^{\circ}C$) は大きく異なることが分かる. すな わち, ΔRDF におけるピーク2に対する極大は, 4.53 Å($25^{\circ}C \rightarrow 5^{\circ}C$), 4.56 Å($5^{\circ}C \rightarrow -15^{\circ}C$) に対して 4.65 Å($-15^{\circ}C \rightarrow -35^{\circ}C$) と長距離方向に移動し, ピーク 3 に対する極大は大きく沈み, ピーク4に対するは極大が かなり強まり, ピーク5 では極大が少し大きくなって長 距離方向に移動している.

図 27 (上部) に示されるように、 $\Delta RDF(-15^{\circ}C \rightarrow -35^{\circ}C)$ の4~10Å領域の形は、氷 I_h結晶の RDFや氷 I_h構造の理論 RDF(σ =0.4Å)と類似している.ここで、もし温度が低下しても生成したガスハイドレート様構造は $-15^{\circ}C$ の状態から変化ないとしたら、 $\Delta RDF(-15^{\circ}C \rightarrow -35^{\circ}C)$ は新たに形成された構造を反映していることになる。しかし、この構造をより明確にするには、ガスハイドレート様構造の変化分を見積もり補正する必要がある。

いま、 $\Delta RDF(5^{\circ}C \rightarrow -15^{\circ}C)$ が $\Delta RDF(25^{\circ}C \rightarrow 5^{\circ}C)$ と類似していることから、 $-15^{\circ}C$ から $-35^{\circ}C$ への温度低 下でガスハイドレート様構造も引き続き生成され、 $5^{\circ}C$ から $-15^{\circ}C$ への低下のときと同程度の生成であると仮定 すると、 $\Delta RDF(-15^{\circ}C \rightarrow -35^{\circ}C)$ と $\Delta RDF(5^{\circ}C \rightarrow -15^{\circ}C)$ の差 ($\Delta \Delta RDF$) は新たなタイプの水素結合構 造の形成によると考えることができる.図 27(下部)



図 26:温度低下, 25°C→5°C (一), 5°C→-15°C (一), $-15^{\circ}C \rightarrow -35^{\circ}C$ (一) に伴う RDFの変化 (Δ RDF). Figure 26: Changes of RDFs (Δ RDF) of liquid water with temperature depressions of 25°C → 5°C (—), 5°C → -15°C (—), and $-15^{\circ}C \rightarrow -35^{\circ}C$ (—).

にその $\Delta \Delta RDF$ を示す. ノイズが多く含まれるが, ~10 Å付近までの形は氷 I_h 構造の理論 RDF(σ =0.6 Å) と類似している. この理論 RDF の4.9 Å のピーク の距離は, 6 員環内の非接触水分子間の平均距離(椅子 型における4.61 Å, 5.40 Å, 舟型における4.61 Å, 4.70 Å の加重平均)に相当する. この類似性は, 仮定 したガスハイドレート様構造の生成見積もりが多少変 わっても大きく変わることはない.

 $\Delta\Delta$ RDF あるいは Δ RDF (-15° C $\rightarrow -35^{\circ}$ C) と氷 I_n 構造の理論 RDF の形が~10 Å付近まで類似していること



図 27: -15° Cから -35° Cへの温度低下における Δ RDF と $\Delta \Delta$ RDF.赤色線(一)は -35° Cと -15° Cの RDFの差: Δ RDF(-15° C $\rightarrow -35^{\circ}$ C).黒色線(一)は Δ RDF(-15° C $\rightarrow -35^{\circ}$ C)と Δ RDF(5° C $\rightarrow -15^{\circ}$ C)の差: $\Delta \Delta$ RDF.緑色 線(一)は λ I_h結晶(-50° C)の RDF(縮尺:0.07).青 色線(一)は λ I_h構造の理論 RDF(σ =0.4 Å,縮尺: 0.1).赤紫色線(一)は λ I_h構造の理論 RDF(σ =0.6 Å, 縮尺:0.1).

Figure 27 : Δ RDF and $\Delta\Delta$ RDF for temperature depression from -15 °C to -35 °C. The red line (—) is the difference of RDFs between -35 °C and -15 °C: Δ RDF(-15 °C \rightarrow -35 °C). The black line (—) is the difference between Δ RDF(-15 °C \rightarrow -35 °C) and Δ RDF(5 °C \rightarrow -15 °C): $\Delta\Delta$ RDF. The green line (—) is RDF of ice-I_h crystal at -50 °C of which scale is reduced to 0.07. The blue line (—) is theoretical RDF of ice-I_h structure (σ =0.4 Å) of which scale is reduced to 0.1. The purple line (—) is theoretical RDF of ice-I_h structure (σ =0.6 Å) of which scale is reduced to 0.1. を考慮すると、-15℃から-35℃への温度低下により氷 I 様構造をもつクラスターも形成されている可能性が高 いと言える.このとき、全体のおよそ5~10%(理論 RDF に対する縮尺から)の水分子がこのクラスターに 関与しており、また、クラスターの平均の大きさは、図 7の96 個の水分子集合体の1/3~1/2 程度(~10Å付 近までの類似性から)と推測される.

図 26 の Δ RDF におけるピーク 5 に対する極大の変化 の様子から,温度が-35°Cから更に下がると, Δ RDF と $\Delta \Delta$ RDF の 10~13 Å 領域の形が氷 I_h 構造の理論 RDF の形に次第に近づく可能性がある.しかし,均一 核生成温度 ($T_{\rm H} \approx -38 \sim -39$ °C) では, $T_{\rm H}$ が-35°Cに 近いことから,両温度間の $\Delta \Delta$ RDF は小さく,クラス ターの平均サイズも大きくは変わらないと推測される. $T_{\rm H}$ において臨界核の条件を満たした氷 I_h 構造をもつク ラスターが生成して過冷却が解消されるが,このクラス ターのサイズは平均サイズよりずっと大きいと考えらえ る.

Speedy²⁰⁾は、液体水のモル定圧熱容量(C_p)の値は $T_{\rm H}$ に近づくと急激に増大し、実験では液体として到達 できない温度である-46°C($T_{\rm s}$ に相当)付近で発散す ると推測した(図 28).この C_p の変化は水素結合の急 激な増加によると考えられる.温度が25°C→5°C→ $-15°C \rightarrow -35°C \rightarrow -45°Cと低下したとき、C_pの値は$ 75.2 → 75.6 → 78.3 → 96.2 → 240.5 J K⁻¹mol⁻¹と変 $化する²⁰⁾.<math>C_p$ は5°C → -15°Cで少し変化の予兆があり、 $-15°C \rightarrow -35°C \rightarrow -45°C$ では温度低下に伴い急増する. この C_p の変化は前述の-15°C → -35°Cの温度低下にお ける ΔRDFの形の変化と相関があり、氷 I 様構造をも つクラスターの生成と対応していると考えられる. $-35°C \rightarrow -45°Cの仮想的過冷却では、更に多くの氷 I 様$ クラスターの生成が予測される.



図 28:液体水のモル定圧熱容量 C_p (一) と氷のモル定圧熱 容量 C_p (一). 破線 (…) は液体水の C_p を温度の関数とし て表した Speedy による式²⁰⁾ を用いて計算された補外曲線. Figure 28: Molar heat capacities at constant pressure, C_p (一) for liquid water and C_p (一) for ice. The black dashed line (…) is the extrapolation curve, calculated by use of the equation for C_p as a function of temperature given by Speedy²⁰.

温度低下による液体水のエンタルピー変化(減少) は,水分子の熱運動の変化のほかに,水素結合形成の増 加と関係があることから, RDF のピーク2の高さの変 化と密接に関係していると考えられる.図29に、C,の 式20)を用いて計算される0℃を基準としたエンタル ピー変化 $\Delta H(0^{\circ}C \rightarrow t)$ とピーク 2 の高さ (補外値を 含む)の関係を示す.この図から分かるように,直線的 な相関は見られなく,低温になるほど $\Delta H(0^{\circ}C \rightarrow t)$ の変化よりピーク2の高さの変化の方が大きくなってい る.これは、1個の水素結合が形成されたとき、ピーク 2 に関与する水分子間(H₂O-H₂O-H₂Oの両端のH₂O 間)の相互作用の数が0~6個(水分子の水素結合の手 を4とする) 増加するが,水素結合構造の発達度が高い ほどこの相互作用数が大きくなることによると考えられ る. ピーク3~5の高さについては、そのピークが関係 している高次構造を構築する水素結合が形成されたとき に変化すると考えられる.

5.3 Ts への接近に伴い推測される構造変化

ガスハイドレート様構造の多面体ケージ中に存在する 水分子(自由な水分子)は,過冷却が進みケージ外部に ある水分子が減少してくると,水素結合ネットワークの 水分子と相互作用してネットワークの一員になることが 予想される.このとき,多面体ケージ内は空隙になり, 密度むらが増すとともに密度低下が起こり,ガスハイド レート様構造が不安定になることから,空隙がより少な



図 29: 温度 t (95~-45°C) における液体水のエンタルピー 変化 ΔH (0°C→t) とピーク2 (4.54 Å) の高さの関係. ΔH (0°C→t) の値は C_p に対する式²⁰⁾を用いて計算され た.青丸(●) で示した-38, -40, -45°Cのピーク2の高 さは補外値.

Figure 29 : Relation between enthalpy change of liquid water, ΔH (0 °C \rightarrow *t*), and the peak height at 4.54 Å of Peak 2 at temperature *t* (95~ -45 °C). The values of ΔH (0 °C \rightarrow *t*) were calculated by use of the equation for C_p given by Speedy²⁰). The peak heights of Peak 2 at -38, -40, -45 °C shown by blue circles (\bigcirc) are estimated by the extrapolation.

い水素結合構造が形成されやすくなると考えられる.こ れは,空隙が相対的に少ない氷 I 様構造の形成にとって 有利な条件と言える.自由な水分子がガスハイドレート 様構造の多面体ケージ内にしか存在しなくなったとき (自由な水分子は全体の約20%になる),氷 I 様構造の 形成開始条件が満たされることになるが,実際には,平 衡が存在すると考えられることから,自由な水分子が 20%よりもっと多い状態で,氷 I 様構造の形成が始まる と推測される.これらのことは,前節で述べた-15℃か ら-35℃への温度低下により氷 I 様構造をもつクラス ターが形成されてくる理由の一つと考えられる.

温度*t*における ΔH (0°C→*t*) / kJ mol⁻¹の値, $-1.15 (-15^{\circ}C)$, $-2.84 (-35^{\circ}C)$, $-4.12 (-45^{\circ}C)$ を考慮し、温度 t への過冷却によって水が奪われる熱 を、0℃での氷の生成に使用されたとすると、水全体の 約 19% $(t = -15^{\circ}C)$, 47% $(t = -35^{\circ}C)$, 69% $(t = -15^{\circ}C)$, 70% $(t = -15^{\circ}C$ -45°C)が氷となり(氷の融解熱は 6.01 kJ mol⁻¹),残 りは0°Cの液体の水と計算される.この液体水にも水素 結合が存在することを考慮すると、4つの手で水素結合 している水分子の割合は上記の氷になっている割合より もっと多いと考えられる. 過冷却水の温度は0℃より低 いこと、また、4つの手で水素結合したときの水素結合 エネルギーが氷結晶中と液体水中とで同じとは限らない ことなどから、厳密なことは言えないが、上記の概算に 基づけば、自由な水分子の割合は-15℃の過冷却水中で はまだかなり多く、-35℃では全体の半分より少なく、 仮想的過冷却温度の−45°Cではごく僅かと推測される.

これらの過冷却水中の自由な水分子の割合を考慮する と以下のような推測が可能である. すなわち, -15℃付 近までは、自由な水分子が多く、冷却により主としてガ スハイドレート様構造の形成が促進される. -35℃近く になると,多面体ケージの外部に存在する自由な水分子 は少なくなるため、冷却によるガスハイドレート様構造 の新たな形成は減少し,氷 I 様構造をもつクラスターの 生成が増加する. -45℃の仮想的過冷却状態では、氷I 様構造のクラスターが多く存在し, ガスハイドレート様 構造の多くは崩壊し残り少なくなり,自由な水分子は多 面体ケージ内に僅かに残っているだけとなる.冷却によ り更に Ts に接近すると、全体が氷 I 様構造に変化して いくと推測される. Ts 近くの温度における過冷却状態 は実験では確認することができないが、Speedy²⁰⁾が T_s における液体水の密度を、Tsでの氷の密度(0.923g cm⁻³)と同程度の0.92g cm⁻³と予測していることと 関係して興味深い.

この5.3節では、ガスハイドレート様構造、多面体 ケージ、氷 I 様構造などがリジッドな構造をもつような 書き方をしたが、実際には、前に述べたように水分子の 動きは非常に早く互いにその状態の交換を行っており、 また、揺らぎによりそれぞれの構造は完全な状態とは限 らなく,寿命も非常に短いと考えられる.また,上記の 記述には,実験で確かめることが難しい仮説に相当する 内容も多く含まれることから,今後の検証が必要とされ る.

6. -30℃までの重水の液体構造

重水 (D_2O) の1気圧下の融点は3.82°C, 沸点は 101.4°C, 最大密度温度は11.6°Cと,いずれも通常の水 である軽水 (H_2O) の値より高いことから,質量の違 いによるだけでなく重水分子の水素結合がより強いこと によると推測される.水の液体構造が水素結合により支 配されていることから,軽水と重水の液体構造を比較す ることは興味深い.

重水に対するX線回折測定は,純液体では−13°C,エ マルションでは−30°Cまでが測定限界であった.これら の限界温度は軽水の場合より2~5°C高く,重水の融点 が軽水より少し高いことと関係していると思われる.図



図 30: $25 \sim -13^{\circ}$ C(温度は黒字で表示)における重水 (D₂O)のRDF(一).赤色線(一)は軽水(H₂O)のRDF で(温度は赤字で表示),比較のため重水のRDFと5°Cず らして示してある.

Figure 30 : RDFs (—) of heavy water (D₂O) at $25 \sim -13$ °C (temperatures are written by black). The red lines (—) are RDFs of ordinary water (H₂O) (temperatures are written by red), shown by shifting temperatures by 5 °C for the comparison.

30 に測定により得られた純液体の 25~-13°Cにおける 動径分布関数(RDF)を示す.低温の RDF には 5 つの ピークが存在し,その位置や形は軽水の場合と非常によ く似ている.重水と軽水の RDF の比較から以下のこと が言える.

- 水分子間距離は、温度が同じとき、軽水の場合とほとんど変わらない。
- ② 重水における水素結合のネットワーク構造は軽水の 場合と同じと考えられる。
- ③ 図 30 に示されるように、重水の RDF のピークの 高さは、5°低い温度の軽水の場合とほぼ同じであ る.これは、水素結合は重水の方が強いことを示唆し ている、5°の温度の違いによる軽水のエンタルピー 変化は~380 J mol⁻¹であることから²⁰⁾、軽水中の水 素結合を重水中と同等にするには、同程度の熱を軽水 から奪う必要がある。

重水を含むエマルションに対する測定から,軽水の場 合と同様の手続きにより得られた-20°Cと-30°Cにおけ る過冷却重水の RDF を図 31 に示す. -30°Cの RDF は 軽水の-35°Cにおける RDF とほぼ同等で,また, Δ RDF(-10°C→-30°C)は,軽水の Δ RDF(-15°C →-35°C)(図 20, 26, 27)と類似し, Δ ARDF につい ても軽水(図 27)と似た結果が得られた.

重水に対する測定結果を総合的に見たとき,¹H と²H (D)の違いによる同位体効果は若干あるものの,水素結 合により構築された液体構造は軽水の場合と基本的には 変わらないと言える.

7. おわりに

水の動径分布関数のピーク4と5は、これまで知られ ていなかったピークで、本研究において、低温とくに過



図 31: 0~-30°Cの過冷却重水 (D₂O)の RDF. 0°C (一) と-10°C (一)の RDF は純液体の測定から, -20°C (一) と-30°C (一)の RDF はエマルションの測定から得られた.

Figure 31 : RDFs of supercooled heavy water (D₂O) at 0 ~ -30 °C. RDFs at 0 °C (—) and -10 °C (—) were obtained from the measurements for pure liquid and RDFs at -20 °C (—) and -30 °C (—) from the measurements for the emulsions.

冷却温度での測定により初めてその存在が明らかにされた.これまで動径分布関数の解析は主としてピーク1と2およびその近傍に対して詳しくなされてきたが,ピーク3についての突っ込んだ議論はあまりなされていない.本稿で述べたように,~10.8Åの距離にあるピーク5の発見が,低温の水とくに過冷却状態の水の構造の解明に対する大きな鍵となった.

通常,固体結晶が融解したとき,結晶中の構造の一部 が液体中にも存在すると考えられることが多い.水の場 合も氷結晶中の正四面体構造を維持したペンタマーや椅 子型・舟型の6員環構造が含まれる氷 I 様構造が液体水 中に存在すると考えられてきた経緯がある.その中で, Pauling は彼一流の直観力により,ガスハイドレート I 型構造における水素結合ネットワークを骨格とする水構 造モデルを提出した.本稿でも述べたが,Paulingの記 述¹²⁾における問題点やモデルの欠点を Narten ら³⁾に指 摘されたこと,長距離までの正確な動径分布関数の報告 がなかったことから,Pauling モデルに対する十分な検 証が行われていなかったと考えられる.本研究でピーク 5 を含む動径分布関数が得られ,初めて Pauling モデ ルの素晴らしさを証明することができたと言うことがで きる.

水分子は大きな極性をもち、強い水素結合を形成する 能力をもっていて、かつ、分子サイズが小さいため、多 彩で変幻自在な集合構造を形成することが可能であり, 温度・圧力,空間の広さ,接触物質の性質や構造,周辺 環境とその変化に応じて、最も安定な水素結合による集 合構造を形成すると考えられる. これは氷の融解につい ても言え,並進運動が自由な液体になったとき,水分子 が再配列して,自由エネルギーが最も低くなるよう,安 定な水素結合構造が形成されると考えられる. -15℃ま での液体水中では,正五角形5員環構造が安定な水素結 合構造の基本単位で,この構造がネットワークを組むこ とにより大きな安定化がもたらされる.温度が低下し て,ネットワーク構造が発達すると,より多くの水素結 合が可能な構造形成が求められ, 深く過冷却が進んだと き氷 I 様構造をもつクラスターが形成されるようになる と考えられる.これは、水素結合した水分子と自由な水 分子の間に一種の平衡があり,自由な水分子が多いとき ガスハイドレート様のネットワーク構造の形成が有利 で、この水分子が不足してくると氷 I 様構造の形成が有 利になると推測される.

本研究の結果が,高温・高圧下の水,制限空間の水, 界面の水などにおける水の構造,有機物質,無機物質, 電解質,疎水性物質,気体物質などを溶解した各種水溶 液中の水の構造,各種混合溶媒中の水の構造など,種々 の条件下における水の集合構造の解明や,過冷却水につ いての様々な問題の解明に対しての一助となることを期 待する.

参考文献

- 1) J. D. Bernal and W. H. Fowler, *J. Chem. Phys.* **1** (1933) 515.
- 2) J. Morgan and B. E. Warren, J. Chem. Phys. 6 (1938) 666.
- 3) A. H. Narten and H. A. Levy, Science 165 (1969) 447.
- 4) A. H. Narten and H. A. Levy, *J. Chem. Phys.* 55 (1971) 2263.
- 5) J. C. Dore, in: F. Franks (Ed.), Water Science Reviews, vol.1, Cambridge University Press, Cambridge (1985) 3-92.
- M. -C. Bellissent-Funel and L. Bosio, J. Chem. Phys. 102 (1995) 3727.
- 7) A. Hura, J. M. Sorenson, R. M. Glaeser and T. Head-Gordon, J. Chem. Phys. 113 (2000) 9140.
- 8) A. K. Soper, Chem. Phys. 258 (2000) 121.
- 9) T. Head-Gordon and G. Hura, Chem. Rev. 102 (2002) 2651.
- H. Yokoyama, M. Kannami and H. Kanno, *Chem. Phys. Lett.* 463 (2008) 99.
- Congcong Huang, K. T. Wikfeldt, D. Nordlund, U. Bergmann, T. McQueen, J. Sellberg, L. G. M. Pettersson and A. Nilsson, *Phys. Chem. Chem. Phys.* 13 (2011) 19997.
- L. Pauling, in: D. Hodźi (Ed.), Hydrogen Bonding, Pergamon Press, London (1959) 1–5.
- 13) F. H. Stillinger, Science 209 (1980) 451.
- 14) H. Kanno, H. Yokoyama and Y. Yoshimura, J. Phys. Chem. B 105 (2001) 2019.
- 15) C. A. Angell, Ann. Rev. Phys. Chem. 34 (1983) 593.
- 16) O. Mishima and H. E. Stanley, Nature, 396 (1998) 329.
- 17) P. G. Debenendetti, J. Phys. Cond. Matter, 15 (2003) R1669.
- 18) C. A. Angell, in "Water, A Comprehensive Treatise" (ed. F. Franks), vol.7, chap.1, Plenum Press, New York (1982).
- R. J. Speedy and C. A. Angell, J. Chem. Phys. 65 (1976) 851.
- 20) R. J. Speedy, J. Phys. Chem. 91 (1987) 3354.
- 21)山口敏男,「イメージングプレート迅速X線回折法による高温高圧水の構造解析」,日本結晶学会誌,36 (1994) 382.
- 22) 横山晴彦,「迅速溶液X線回折装置を用いたX線回折実 験法とデータ処理法」,横浜市立大学論叢 自然化学系列, 52 (2001) 31.
- 23) G. Johansson and H. Yokoyama, *Inorg. Chem.* 29 (1990) 2460.
- 24) H. Yokoyama, K. Shinozaki, S. Hattori and F. Miyazaki, *Bull. Chem. Soc, Jpn.* **70** (1997) 2357.
- 25) 荒田洋治,「水の書」,共立出版(1998) 113-116.
- 26) T. C. W. Mak and R. K. McMullan, J. Chem. Phys. 42 (1965) 2732.

X線ラウエ法による氷結晶の方位解析

宮本 淳1)

2012年11月8日受付, 2012年12月20日受理

氷結晶の方位,特に氷床コア試料の結晶 c 軸方位は,氷床の変形履歴を反映し,氷床の力学的性質 を決定する主要因子として詳細に調べられてきた.測定装置は,多くの時間と労力,操作に熟練を要 するユニバーサル・ステージから発展し,近年は自動測定装置が用いられている.2000 m を超える ような深層コアの解析には自動化された測定装置が有効に用いられているが,氷床深部に存在する非 常に強い単極大型などの特殊な結晶方位分布の詳細を明らかにするには,十分な測定精度を有してい ない.そこで,筆者らはX線を用いた半自動化された結晶方位測定装置を開発し,高精度測定を実現 した.本稿では,この装置の開発について述べ,研究への適用例について紹介する.

Ice crystal orientation measurement using Laue X-ray diffraction method

Atsushi Miyamoto¹

Ice crystal c-axis orientation of ice core samples have been investigated in detail as a major controlling factor of the mechanical properties of ice sheets. The universal stage was a common measurement device for c-axis orientation. The measurement procedure using this device is very time-consuming, involving tedious work in a cold laboratory. Instead, automated measuring devices have been widely used in recent years. Those are very effective for the analysis of large amounts of samples with more than 2000 m long ice core. However, the automated devices do not have a sufficient measurement accuracy to reveal details of the exceptional crystal orientation distribution such as the very strong single maximum existing in the deep part of ice sheet. Therefore, in order to obtain high accuracy, a new ice crystal orientation measuring device has been developed using the Laue X-ray diffraction method. This paper describes the development of this new device and examples of applying it to various researches.

1. はじめに

結晶の特性は,原子の並ぶ向き(結晶方位)によって 異なる.材料科学や金属学,地質学で扱う結晶のほとん どは多結晶体であり,それぞれは異なる結晶方位を持つ 多数の結晶粒の集合体である.さらに,これらの多結晶 体は,生成過程や変形,温度の履歴に応じて,粒径が粗 大化あるいは細粒化したり,結晶方位がある方向に揃っ たりなどの集合組織を持つ.よって,多結晶体を構成す るそれぞれの結晶粒の粒径や方位など調べ,結晶集合組 織の情報を知ることによって,その多結晶体の性質を明 らかにすることができる.材料科学においては,例えば 加工方法と結晶組織,そしてその材料強度の関係などが

¹ Institute of Low Temperature Science, Hokkaido University, Sapporo, Japan E-mail:miyamoto@lowtem.hokudai.ac.jp

論じられ, 地質学においては, 岩石を構成する鉱物の集 合組織から、その岩石がたどってきた温度や変形の履歴 を議論し、地球の岩石圏の変動を明らかにしている.本 稿では、天然に存在する氷、特に南極やグリーンランド に存在する氷床の研究における氷結晶の方位解析につい て論じるが、岩石と同様に氷床の変動の歴史は氷結晶の 結晶集合組織に記録され、特にその変形は主に結晶方位 分布に支配されている.このような背景の下,結晶の方 位測定に関する研究が盛んに行われてきた.同じ結晶方 位を測定するという目的でも,各研究分野において多様 な測定手法が存在する.本稿では、氷結晶の方位測定に 用いられてきたいくつかの手法とその利点、欠点を紹介 し,氷床研究を目的として,筆者らが行ってきたX線ラ ウエ法による氷結晶方位解析装置の開発について述べ る.また、その装置を用いて行われたグリーンランド氷 床コアや人工単結晶氷の結晶方位解析から得られ始めて いる新たな知見についても紹介する.

¹⁾ 北海道大学低温科学研究所

2. 氷床研究における結晶方位解析

2.1. 氷床コアの物理的研究

氷床コアとは、南極やグリーンランドなどの極地氷床 で掘削された直径 10 cm 程の円柱試料である.掘削技 術の向上により、表面から岩盤までの深層掘削を目指し た計画も多く、深層コア試料の数は世界各国で 10 数本 に達している.コア試料に閉じ込められた空気は地球に 存在した過去の空気そのものであり、火山灰等の不純物 も層序を持って氷床に堆積し、それらの分析から過去数 十万年に達する地球の気候・環境変動の詳細が議論され てきている.氷床コア研究は、地球環境科学において非 常に重要な役割を果たしている.

このような氷床コア研究においては、深部ほど年代の 古い氷を得ることができるが、年層厚が深さとともに薄 くなるために分析の時間分解能が低くなる.高精度化し てきている衛星観測等によって氷床の表面形状や高度, レーダー観測によって氷床の内部層構造が明らかにな り、また計算機シミュレーションの発達により氷床流動 モデルも高度化しており、過去から未来に至る氷床の形 状も議論されている.しかし,深層氷床コア掘削によっ て、これまで得ることが困難であった氷床深部の氷の結 晶組織や力学的性質が明らかになると,モデルと実際の 氷床氷の特性との相違点がはっきりしてきた.実際、コ ア掘削後に深部の年代が流動モデル計算で予想されたも のよりも大幅に若いことが明らかになり、目的の年代に 達しなかったという報告がある (Dahl-Jensen et al., 2002).また、グリーンランドにおいてはわずか30km 離れた地点で掘削されたコアの深部の気候・環境情報シ グナルの不一致が報告されている(Taylor et al. 1993). この不一致は氷床深部特有の氷の力学的性質が原因であ ることが氷床コアの変形実験から示されている (Castelnau et al., 1998; Miyamoto et al., 2002). 以上の ように,氷床深部では氷床の変形の大部分を担っている にもかかわらず、未だ不明な点が多く、年代の見積もり 誤差を大きくしている.よって,氷床深部のコアから高 精度に地球の気候・環境変動の歴史を読み取るために は、氷床流動モデルの基礎情報となる氷床の内部構造、 具体的には層構造などのマクロなスケールまでの構造か ら結晶方位などの結晶集合組織,再結晶や結晶粒成長に 関わる結晶微細構造などのミクロなスケールの構造と変 形機構の詳細を知ることが不可欠である.しかし、詳細 な氷床の内部構造を直接観察する方法として, 地質学の ように露頭を観察することが不可能な氷床研究において は、広範囲かつ多点で掘削された氷床コア試料を用いる しかなく、わずか10数本のコア試料のみからしか氷床 内部の氷を得ることができない現状では、その内部構造 の理解が十分に進んでいるとは言えない.

2.2. 氷床氷の力学的性質

地球上に通常存在する氷の結晶形は氷 I_h と呼ばれ, 六方晶系の結晶である.酸素原子が作る六角形の格子面 を基底面と呼び,この面に垂直な方向が c 軸である.c 軸に直交方向で正六角形の対角方向を a 軸と定義する. 結晶の代表的な変形機構は,転位の移動による塑性変形 として理解されているが,氷単結晶は基底面を滑り面と して容易に変形する強い塑性異方性を持っている (図1).つまり, c 軸に平行な方向の圧縮については変 形しにくく, c 軸に鉛直方向のせん断変形に対しては変 形しにくく, c 軸に鉛直方向のせん断変形に対しては変 形しにくく, c 軸に鉛直方向のでも、最大分解せん断応力 が,滑り変形しやすい基底面に働き,最も変形しやすく なる.同様に,多結晶体についても、単純には,圧縮軸 と c 軸のなす角度が 45°の結晶が多くなれば,より変形 しやすくなる.

ここでは、筆者らが進めてきたグリーンランド氷床頂 上ドーム位置で掘削された GRIP コアを用いた研究に ついて述べる.はじめに氷の力学的性質を支配する主要 因である結晶 c 軸方位分布を明らかにし、続いてコア軸 (コアは鉛直方向に掘削されるが、掘削孔は厳密には鉛 直方向にはならず、特に深部では多少傾斜する.よって 掘削された円柱コア試料の軸をコア軸と呼び、基準とす る.)から 45°傾けて切り出されたコア氷試料の一軸圧 縮試験を行い(圧縮試験時の最大分解せん断応力が氷床 の水平方向に一致する),結晶方位と氷試料の変形のし やすさについて調べた.氷の変形のしやすさは、圧縮試 験において、定常クリープ時のひずみ速度を比較した. 多結晶氷の定常クリープ時のひずみ速度(*ɛ*)と応力 (*σ*)の関係(氷の流動則)は、Glen(1955)により実 験的に導かれ、次式で表される.

$$\dot{\boldsymbol{\varepsilon}} = B\boldsymbol{\sigma}^n \exp\left(-\frac{Q}{\kappa T}\right)$$

ここで, B は流動パラメータ, n は応力定数(氷の場合 $n \approx 3$) Q は活性化エネルギー, κ はボルツマン定数, T は絶対温度である.流動パラメータは結晶粒径, c 軸方位分布, 不純物濃度などに依存する. コア試料の



図1:単結晶氷の基底面滑り変形.

試験結果から得られた流動パラメータと標準的な多結晶 試料(粒径が氷床氷と同程度で結晶方位分布がランダ ム)を試験した時の流動パラメータの比を取れば,結晶 粒径以外の要因によって, コア試料が標準多結晶試料よ りも何倍ひずみ速度が速いか, 遅いか (変形しやすい か、変形しにくいか)という議論が可能になる、これを エンハンスメント・ファクターとして数値化した.その 結果、氷床深部においてはエンハンスメント・ファク ターが50を超える(このコア試料は、標準多結晶試料 よりもひずみ速度が50倍速い)ことが明らかになった (図2).また, c軸方位の集中度のごくわずかな違いで 変形のしやすさが数十倍変化するということが明らかに なった. さらに, 岩盤付近の最深部を除いて, 氷体は深 さとともに結晶 c 軸方位分布の集中度が増加するのに調 和して、徐々に変形しやすくなっていくが、氷床深部 (約2100m以深)においては結晶c軸方位分布が著し く発達し、すべて結晶の c 軸方位がほぼ同じ方向に集中 する強い単極大型を示し(図3),氷床の水平方向に異 常に変形しやすくなることを明らかにした(Miyamoto et al., 1999; Miyamoto et al., 2003). この実験事実は氷 床の変形速度が,ごくわずかな c 軸方位分布の違いで大 変動する可能性を示唆しており、これまで提唱されてい



図2:GRIP コアの定ひずみ速度・定荷重一軸圧縮試験によ り求められたエンハンスメント・ファクター(流動パラメー タBより計算.結晶方位分布がランダムな氷よりも何倍軟 らかいかという指標)の深さ分布.深部では,水平方向の変 形に対して結晶方位分布がランダムな氷よりも 30 倍以上軟 らかい氷の存在を確認することができる.圧縮試片の切り出 し方法は,グラフ中に模式図として表した.

る氷床流動モデル(例えば, Azuma, 1995) では実験結 果を説明することができない、この変形のしやすさの要 因については,不純物濃度や粒径が厚さ数 mm から数 cm の年層スケールで異なる互層縞模様構造等と氷の変 形速度の相関について調べられたが、明瞭な相関はな く、c軸方位の強い集中という、特殊な結晶方位分布が 最も強い支配的要因であることが示されている (Miyamoto, 1999). ここで問題になるのは結晶 c 軸方 位分布がコア軸を中心に数度以内に分布していることで ある.隣り合う結晶粒の角度差が5°以内にあることは 明確であり、例えば角度差が0から5°の間で、変形の しやすさが大きく変化するようなメカニズムがあること が予想される.しかし、従来からのユニバーサル・ス テージによる解析(測定精度約5°)ではこれらの方位 角度差を議論する測定精度の限界を超えている.著しく 強い単極大型に発達した結晶 c 軸方位分布を定量的に議 論するためには高精度の結晶方位測定が不可欠であるこ とがこれらの研究から示され、X線を利用した測定装置 の開発に至った.

3. 氷結晶の方位測定法

3.1. 種々の氷結晶方位測定法

氷床コア試料をはじめ,地球上に存在する天然の氷結 晶の粒径は数 100 μm から数 10 cm ほどである.通常氷 床コア試料の結晶方位を調べる際は,面積 100 cm²程 度,厚さ 0.5 mm 以下の薄片を作成し,その中に含ま れる直径数 mm 程度の結晶粒 200 個程度の結晶方位を 調べる.

種々の氷結晶方位測定方法の利点,欠点等は,表1に まとめるが,主要な測定装置として,氷床コア研究の初 期から用いられてきたのは,ユニバーサル・ステージで



図3:GRIPコア2537mの結晶c軸方位分布.シュミット・ネットにプロットし,中心がコア軸方向.測定結晶粒数は210個.ユニバーサル・ステージにより測定されたGRIPコアのc軸方位分布のうち,最も強い単極大型を示した.天頂角10°の小円内にほぼすべての結晶粒が入り,平行度は99.2%を示す.

表1:氷結晶の方位測定方法

測定法	測定装置	得られる 情報	利点	欠点	フィールド での測定可否
手動光学的手法	ユニバーサル・ステージ	c 軸方位	 ・同様の方法で測定された大量のデータの蓄積あり 	 複雑な測定手順と 多大な労力が必要 低い測定精度 (5°程度) 	可(要光源)
自動光学的手法	市販の装置, 自作解析装置	c 軸方位, 粒径	• 自動測定	 ・低い測定精度 ・測定原理由来の エラー 	可(要 電 源 , 制御用 PC)
エッチピット法	顕微鏡	c 軸・a 軸方位	 ・簡便な測定装置 ・a 軸方の測定が可能 	 複雑な測定手順と 多大な労力が必要 ・低い測定精度 	म्
超音波法	超音波厚さ計	c 軸方位集中度	・簡便な測定装置	・個々の結晶の方位 測定が不可	П
X線極点図法	X線源, ゴニオステージ	任意の結晶方位の 集中度	 任意の結晶方位の集中度の測 定が可能 	 個々の結晶の方位 測定が不可 装置の大型化 	不可
EBSD 法	走査電子顕微鏡, 冷却チャンバー	任意の結晶方位, 方位マッピング	 ・結晶方位のマッピングが可能 ・高精度測定(約0.1°) ・自動測定 ・任意の結晶方位の測定が可能 	 ・狭い測定範囲 (数 cm²) 冷却チャンバーが 必要 ・装置の大型化 	不可
X線ラウエ法	X線源,X線カメラ, 電動ステージ	任意の測定箇所の 任意の結晶方位	 高精度測定(<0.5°) 高空間分解能(<0.5 mm) 任意の結晶方位の測定が可能 広い測定範囲(約 100 cm²) 	 ・装置の大型化 ・比較的遅い測定速度 	不可

ある (Langway, 1958). この方法では自在回転台に置 かれた薄片試料を手順に沿って回転させ,各結晶の消光 位を目視で探すという光学的方法でc軸方位を決定す る. 簡便な装置でフィールドにおいても測定可能である が、測定には熟練が必要な上に多大な労力を要する.現 在は、この測定原理に基づいて操作手順を画像解析によ り自動化した装置が開発されている (Wang and Azuma, 1999). 画像解析技術の発達により, 各結晶の 粒形の認識も自動的に行われ、結晶粒径や結晶粒の伸長 方向の情報も得られる.特に近年の氷床コア研究におい ては、オーストラリアのメルボルン大学で開発された自 動測定装置が、標準的なものとして世界各国で用いられ ている (Wilson et al., 2007). 装置は小型化しており, 全体で 25 kg ほどなので,電源さえ確保されればフィー ルドでの運用も可能である.世界各国が同じ装置で測定 された共通のデータセットを持つことになるので、研究 結果の比較には大きな利点がある.この装置は現在市販 されている (Russell-Head Instruments 社製 G50 fabric analyser).

エッチ・ピット法では,氷試料表面に現れる特定の結 晶面で構成される腐食孔(エッチ・ピット)の輪郭を解 析することで結晶方位を決定することができる (Higuchi, 1958; Matsuda, 1979).六方晶である氷では, 昇華により,試料表面に生じる正六角柱を基本構造とし たピットを顕微鏡で観察することができる.他の方法に 比べ,必要な機器は最も簡便であるが,観察可能なピッ トを作る点,複雑な解析などの点において熟練が必要で あり,多大な労力を要する. 超音波法では,氷結晶中を伝わる超音波速度の異方性 を利用して結晶 c 軸方位の集中度を議論することができ る(Langway et al., 1988).氷床コア研究においては, 試料表面を平滑に処理することで測定でき,測定試料を 他の解析に再利用することができる利点もあるが,個々 の結晶粒方位を測定することができず普及していない.

X線極点図法は金属の結晶組織などの細粒結晶の方位 測定に用いられる方法である.氷床コア研究において も,表層の比較的細粒なフィルンの結晶方位測定には有 効であるが,超音波法と同様に個々の結晶粒方位を測定 することができない.

SEM (走査電子顕微鏡)によるEBSD (Electron Back Scattering Diffraction,後方散乱電子回折像)法 は確立されたひとつの方法であり,近年結晶材料の結晶 方位測定に盛んに用いられている.測定,解析も自動化 され,結晶方位のマッピング情報も得ることが可能であ り,微小な範囲の詳細な結晶方位を正確に知ることがで きる.しかし,氷床コア研究においては,直径数 mm 程度の結晶粒の方位を大量に測定する必要があるため, その測定範囲は広範囲になる.そのため,比較的測定範 囲の狭い(数 cm²)この方法は,個々の氷結晶の方位を 広範囲にわたり測定する目的には適さない.

3.2. X線ラウエ法による結晶方位測定装置の開発

氷の結晶方位測定における長年の課題は,測定におけ る多大な労力であった.低温実験室あるいはフィールド において長時間にわたり研究者がユニバーサル・ステー ジを操作して個々の結晶の方位を測定しなければならな かった.また,測定に関して研究者の熟達度が結果に影響を与えることもあった.現在標準的に用いられている 自動化された結晶 c 軸方位解析装置はそれらの点を克服 しているが,ユニバーサル・ステージと同様の測定原理 を利用しているため,高精度測定には向いておらず,特 定の方位測定に関してエラーが存在することも報告され ている.X線測定の目的はこれまでにない高精度な結晶 方位解析である.また,氷床内部における,ある深度の 結晶方位分布の代表性を得るためには,これまでの方法 と同様に 200 個程度の結晶粒の測定が必要である.

このような測定条件を満たすX線ラウエ法による氷結 晶の結晶方位解析については,Mori et al. (1985)の先 行研究があり,X線発生装置(リガク社製 SLX-2000, 管電圧 60 kV,管電流 250 mA)も低温科学研究所の低 温室内に既設されていたので,この方法を採用した.ラ ウエ法はX線結晶学において確立された方法であるが, 試料に連続X線を当て,前方あるいは背面に置かれた ディテクターでラウエ斑点像を記録する方法である.得 られたラウエ像を解析することにより,氷結晶について は c 軸のみならず, a 軸方位の測定も可能であり,結晶 学的に完全な方位情報を得ることができる.電動ステー ジを用いて結晶ひとつひとつにX線を当てることができ れば,氷床コア研究で用いる比較的大きな薄片試料(約 100 cm²)の測定も可能である.

開発は測定手順に従い,試料の準備と装置の設計,ラ ウェ像の取得,ラウェ像の解析の3つについて検討し, 測定の自動化に向けて装置の改良を進めてきた.図4に 装置の概略を示し,以下に装置の概要について述べる.

氷床コア試料の結晶をひとつひとつにX線を当てるためには,薄片試料を用い結晶粒を認識する必要がある.



図4:X線ラウエ法による結晶方位装置のステージ部.点線 で囲まれた部分で各結晶の認識とX線照射部分の座標を決め る.破線で囲まれた部分でX線の照射とラウエ像の取得を行 う.

ラウエ法にはX線源,ディテクター,試料の順に配置 し,試料から背面に反射するラウエ像を得る背面反射法 とX線源,試料,ディテクターの順に配置し,試料を透 過したX線が作るラウエ像を得る透過法がある.この装 置の開発では,X線の強度,コリメータ径,試料とディ テクター間の距離,X線の露出時間等を様々に調整し, 両方の方法について検討した結果,薄片試料から解析可 能なラウエ像を得るために,透過法を用いることにし た.また,薄片試料は通常ガラス板に固定されるが,ガ ラス板によるX線の吸収により十分な回折強度を得られ ないため,アクリル板を用いた.

装置はX線発生部,電動ステージ,制御部(ステージ コントロールおよび制御プログラムは自作.X線シャッ ターのコントローラは低温科学研究所技術部で製作.) から成る.電動ステージ(低温科学研究所技術部で製 作)および CCD カメラはX線照射位置座標を決める (個々の結晶の認識)ために導入した(図4).低温室外 において,偏光フィルターをつけた CCD カメラを通し た映像で薄片中の結晶粒ひとつひとつを確認しながら試 料を載せた電動ステージを操作し,X線照射位置座標を 決める.座標位置はファイルに保存され,測定時にはそ の座標情報を読み取り,ステージをコントロールするこ とにより,自動的に目的の結晶にX線を照射することが できる.

多数の結晶粒の方位解析のためには、デジタル化され たラウエ像を保存し、ラウエパターン解析ソフトウェア を用いて方位情報を得る必要がある.ディテクターは当 初イメージング・プレート(IP)を用い、露出時間 30秒ほどで解析可能なラウエ像を得ることができた. しかし、結晶ひとつを解析する毎に、IPの取り付け、 X線照射、IPの取り外し、IPの読み取りの一連の作業 が必要であり、多数の結晶粒の解析としては現実的な方 法ではない.そこで、Rad-icon 社製X線 CMOS カメラ を導入した.ディテクター部の面積は5×5 cm で、こ のカメラ導入により IP では 30 秒必要であったX線露 出時間は5秒に減少し、X線照射終了とほぼ同時にラウ エ像をコンピュータに取り込むことができるようになっ た.

得られたラウエ像の解析は、ラウエパターン解析ソフ トウェアを用い、ラウエ斑点の位置をデジタイズし、解 析することによって方位情報を得ることができる.しか し、1枚の薄片試料中の200個の結晶粒から得られた 200枚のラウエ像を解析し、一連のデータセットとして 保存するようなソフトウェアは存在していなかった.そ こで、ラウエパターン解析ソフトウェアを開発している ノルム工学社と共同で、大量の方位解析用のソフトウェ アを開発した.図5はそのソフトウェアの代表的な解析 画面の一例である.具体的には、予め測定する面指数を 入力し、指数付けが決定した後、各方位の数値をファイ



図5: ラウエパターン解析ソフトウェア上の解析結果表示画面.パターン表示の 左側の表示中,黒い点はX線装置により得られたラウエ斑点像.その上に重 なっている青い丸印が解析によりシミュレートされたラウエ像.両者は完全に 一致している.

ルに転送する仕様とした.転送後,次に解析するラウエ 像を自動的に読み込むなど,解析操作を極力少なくする 工夫をし,アルゴリズムの改良によりラウエパターンの 検索時間が早くなり,精度も向上した.

現在,すべての操作が低温室外から可能である半自動 化された測定装置として稼働している(Miyamoto et al., 2011).方位解析精度は0.5°以下で従来の方法より も一桁上がり,空間分解能は0.5 mm以下,半日で100 粒子ほどの測定が可能になり,高精度氷結晶方位解析装 置としての目的を果たし,現実的な解析速度を実現する ことができた.測定の自動化を目指し,開発は継続して いるが,特に,画像解析の技術は進歩が速く,現在測定 速度を律速しているラウエ斑点のデジタイズは,近い将 来自動化できると考えており,さらに測定速度が向上す ることが期待される.高精度測定,高空間分解能測定, a軸方位の測定の3つの利点により,氷結晶組織に関す る研究は新たな段階に入ることができたと考えている.

4. X線ラウエ法結晶方位測定装置を用いた研究

X線ラウエ法導入の目的は氷結晶の c 軸方位を正確に 測定することにあったが,その測定原理上あらゆる結晶 面方位を測定することができる.氷結晶の場合, c 軸に 加え a 軸を測定すれば,結晶学的に完全な方位を記載 することが可能である.また,測定空間分解能も 0.5 mm 以下とユニバーサル・ステージによる測定に比 べ高い.本章では,この2つの利点を生かした研究によ り得られ始めた新たな知見について述べる.

4.1. 氷床氷の a 軸方位分布

氷床コア研究において c 軸方位分布は,氷床の流動特 性を支配する主要因として物理解析の重要な基礎情報と して議論されてきた. 南極,グリーンランド氷床で掘削 された深層氷床コアの c 軸方位の深さ分布は,一般的に は浅層部のランダム配向から深層部における氷床の鉛直 方向への強い集中(単極大型)と深さとともに徐々に集 中度が増す.2.2節で述べたように,グリーンランド GRIP コアの結晶方位解析からは,深部において c 軸方 位が著しく単極大型に発達していることが明らかになっ ている.この深度では,力学試験により特に氷床の水平 方向に異常に変形しやすいという結果を得ており,わず かな c 軸方位分布の違いで,変形のしやすさが大きく変 化することも明らかになっている.その原因を探るため にも a 軸方位の測定も行い,完全な結晶方位分布を記 載することを試みた.

開発した結晶方位測定装置により, c 軸と a 軸 3 軸 (図 6 a) を測定した (Miyamoto et al., 2005). その結 果, c 軸方位分布についてこれまでユニバーサル・ス テージで行ってきた結果と同様に強い単極大型であった が,測定精度はこれまでに比べ高くなっている. a 軸方 位分布は図 6 b に示す. a 軸方位は 3 軸測定し,シュ ミット・ネットにプロットしているので,もし a 軸方 位が同じ方向に揃う傾向があれば, 60°毎に 3 つの極大 が現れるはずである. 図 6 の 2374 m の a 軸方位は破線 で示すように 3 つの極大を確認することができ,極大と 極大の間の角度は 60°である. 同様に 2483, 2593, 2647 m に も a 軸方位 の 與方性分布が確認 さ れた. 2483 m については a 軸が分布していない部分 (矢印で



図6:(a)測定した軸方位(c軸とa軸3軸の計4軸)を表す 模式図と(b)測定されたGRIPコアのa軸方位分布.各シュ ミット・ネットに付した数字は深度と測定数(a軸はひとつ の結晶につき3軸測定しているので,測定結晶粒数は表示の 数字の1/3.).グレーで示したシュミット・ネットはa軸方 位の異方性分布が確認されたことを表す.

示した)が60°毎に3箇所明瞭に確認することができ る.当初,a軸方位はランダムに分布すると予想した が,c軸方位が強い単極大型を示す深度において,a軸 方位も部分的に揃うことがX線による氷床氷の結晶方位 解析から明らかになり,c軸方位分布がほぼ同じであっ てもa軸方位分布の集中度に差があることがわかっ た.

このa軸方位の異方性分布はc軸方位の分布のよう に深さとともに集中度が増すような傾向は確認されな かった.a軸方位が発達した深度と発達していない深度 が互層を成している.これは c 軸方位の集中化は深さと ともに増す鉛直ひずみによる結晶粒の回転で説明されて いるが (Azuma and Higashi, 1985), a 軸方位の異方性 分布は別のメカニズムによるものであると予想できる. a 軸方位の集中化の原因を明らかにするために、はじめ に粒径を測定した.その結果, a 軸方位の異方性分布が 確認される部分の粒径はその周りに比べて小さいことが 明らかになった、この構造は変成岩に見られるマイロナ イト構造に類似している.マイロナイト構造は,強いせ ん断変形を受け,再結晶により鉱物が細粒多結晶化した 時に生じる、氷床内部においても、特に氷床底部でせん 断変形を受けた結果、粒径が比較的小さくなり、a軸方 位が揃ったと考えられる.

さらに、GRIP コアの単純せん断試験を行い、変形前後の a 軸方位分布を比較し、a 軸の発達過程を調べた. 試験装置は Li et al. (2000)と同様のものを用い、 -15℃の環境で行った.せん断方向は氷床深部の応力場 を想定し、氷床の水平方向に平行(コア軸に対して鉛 直)に設定した(図7a).変形前の結晶 a 軸方位に異 方性分布を確認することができない 2427 m の試料を、



図7:(a)コア軸とせん断応力方向の関係を示す模式図.(b)せん断方向と a 軸 方位が一致することを示す概念図.

最終ひずみ量 30%まで単純せん断変形させた結果,変 形後の a 軸方位には弱い異方性分布を確認することが できた.変形後,結晶粒径は細粒化し,せん断方向とひ とつの a 軸の集中軸 [1120] が一致していることが明 らかになった(図7b).同様の分布が 2593 m の試験に おいても確認され,この試料の試験前の a 軸方位は異 方性分布を示しており,その集中軸はせん断方向とは一 致していなかったにも関わらず,試験後の a 軸方位集 中軸はせん断方向に一致する傾向を示した.これらの試 験結果より,その傾向は非常に弱いものの, a 軸方位が せん断方向に揃う傾向があることが明らかになった (Miyamoto et al., 2005).

4.2. 氷の変形のしやすさと結晶方位分布の関係

氷床深部の応力場を想定した GRIP コアの単純せん 断試験により得られたひずみ速度とその試験片の c 軸方 位の集中度(測定された各結晶方位の方向ベクトルの平 行度で、方位がランダムな時0%、すべての方向ベクト ルが同じ方向の時に100%の値を取る.)の関係を調べ た(宮本ら, 2005). 単純せん断試験は, -15°Cにおい て,応力0.18 MPa で行った.用いた試料の c 軸方位の 平行度は93%以上で、どれもその分布は単極大型であ る.ひずみ速度は、ひずみ量の増加にともない、おそら く結晶粒の細粒化のためと考えられるが、減少を続ける ので、細粒化が起きていないひずみ量2%時のひずみ速 度を比較した.ひずみ速度は、平行度98%以上におい て急激に大きくなることが明らかになった.2427 mの 試料の平行度は 98.1%, 2537 m は 98.8% とごくわずか なc軸方位集中度の違いであるが、ひずみ速度は 2537 m の方が2倍以上大きい. c 軸方位の集中度が大 きくなると、隣り合う結晶粒の角度差は非常に小さくな り、試料は単結晶体に近くなり、粒界が転位の移動の妨 げになる効果が低くなっていると考えられる.

ここで, a 軸方位分布の影響について検討する. c 軸 方位分布は両者とも強い単極大型であり,a軸方位が異 方性分布を持つものと持たないものの2つの試料間には 転位の移動度に関して差が生じ,変形のしやすさも異な ることが予想される.上述の通り,2427mと2537m の両者の試料の c 軸方位分布の差はごくわずかであり, ほぼ同じと言える.2倍以上のひずみ速度の差の原因を a軸方位分布に求めれば,2537 mのa軸方位分布の異 方性がより強いと予想されるが、実際には2427 mの異 方性がより強かった.現時点では、a軸方位分布の集中 度を定量的に表すことができていないために, c 軸方位 の影響とa軸方位の影響を分離することができず,変 形のしやすさと結晶方位分布の関係を定量的に議論する ことができないが、a軸方位分布が変形のしやすさに与 える影響は小さいと考えられる.いずれにしても、氷床 深部の氷の力学的性質はコアの年代決定や氷床流動に大 きな影響を与え、単極大型に発達した結晶 c 軸方位分布 がわずかに異なることにより、その性質が大きく変化す ることが明らかになり、氷床深部は非常に複雑な流動状 態であると想像できる.また、地球温暖化などの影響で 氷床全体の質量バランスが変わった時には、氷床の流動 状態が大変動する可能性が示唆される.さらに詳細な議 論を行うために、現在様々な地点で掘削された深層氷床 コアに加え、次節に示すような結晶方位の関係を単純化 した人工氷試料を用いた結晶方位解析と変形実験を継続 している.

4.3. 再結晶粒の a 軸方位分布

a 軸方位の発達過程の詳細を明らかにするために、人 工単結晶氷を用いた実験を行った.単結晶氷の基底面に 最大分解せん断応力が働くように,一軸圧縮軸と c 軸の なす角度を 45° に設定し、-15°Cの温度条件下で試験を 行った(図8a).その結果,変形後の試料は座屈して いるものの変形量の大きいせん断変形帯に粒径数 mm の偏平した再結晶粒が発生した(図8b, c). 試料の底 面や表面に接しておらず,図8cに示すように隣接せ ず,距離をおいて分布する結晶粒も含む3つの再結晶粒 の結晶軸方位を調べた結果, c 軸, a 軸ともに揃った方 位関係であることが明らかになった.この再結晶粒の方 位は母結晶である元の単結晶氷の方位には一致せず, c 軸はせん断面にほぼ鉛直で,ひとつの a 軸が滑り方向 にほぼ一致することもわかった.この結果は、氷床深部 のコアにおいて発見されているa軸方位分布を実験的 に再現できたことを意味している. つまり, a 軸方位が 揃うという特殊な結晶方位分布は,当初予想した通り, せん断変形により発達したものであることが示唆され る.a軸方位の集中度が定量化できれば、粒径の情報も 参考にして、氷床内部においてそのせん断変形量等の情 報を得られる可能性はあるが、詳細な議論は今後の課題 である.

4.4. その他の研究への応用

X線ラウエ法による氷結晶方位解析装置は、その高精 度、高空間分解能測定とc軸以外の軸方位解析可能とい う特徴を生かして様々な研究に応用されている.氷床内 部の結晶の再結晶過程の理解ために、結晶内に観察され る亜結晶境界間のc軸、およびa軸方位角度差を精密 に測定することにより、その方位関係を議論した.南極 EDML コアを用いた研究では亜結晶境界の分布と方位 角度差を調べたが、その方位関係は主に3つのパターン (①亜結晶境界は氷結晶の基底面に対して平行で、回転 軸は基底面に平行.②亜結晶境界は基底面に対して垂直 で、回転軸は基底面に平行.③亜結晶境界は基底面に対 して垂直で、回転軸は基底面に垂直.)に分類でき、角 度差は4°以下であることを見出した(Weikusat et al,



(a) 変形前

(b)変形後

(c)薄片

図8:単結晶氷の変形実験前後の試料と応力関係,変形状態を示す概略図.(a)変形前: c軸方位と圧縮軸のなす角度は45°.(b)変形後:試料は座屈しているものの,せん断変 形帯(点線で示した部分)が確認され,再結晶粒が変形帯に並んでいることが確認され た.(c)薄片:せん断変形帯内の再結晶粒の結晶方位を調べるために,薄片試料を切り出 した.試料表面で核生成していない粒径数 mm 以上の結晶粒を選択し,結晶方位を測 定した.六角形で示したように,結晶粒は必ずしも隣接して並ぶのではなく,距離をお いて分布する結晶も確認できた.

2011).

また,高空間分解能測定を生かして細粒結晶の方位解 析を行った.凍土中の析出氷は針状の氷を束ねた特有の 構造を持ち,その断面の粒径は1mm以下から数mm 程度と比較的小さく,従来の方法では結晶方位の測定は 困難であった.この研究では,土の凍結に伴って発生す る大きな凍上力について,析出氷の結晶方位に着目して 解明することを目指している.載荷重かけて析出氷を成 長させ,荷重と結晶 c 軸方位の関係を調べた.その結 果,荷重ゼロの場合,主に a 軸成長 (c 軸方位は氷の成 長方向に対して鉛直)の氷結晶で構成されることを示 し,荷重が大きくなると c 軸成長 (c 軸方位は氷の成長 方向に対して平行) に変化する傾向が確認された (武田・宮本, 2010).

5. まとめ

本稿では、氷の結晶方位測定に関して、これまで用い られてきた種々の測定方法を紹介し、それぞれの方法の 利点と欠点をまとめた.特に筆者らが進める氷床研究に おいて、氷の結晶方位測定を高精度に行うには、粒径等 の試料の特徴からX線ラウエ法が有用であり、測定装置 を開発し、半自動化された装置を完成させた.この装置 の高精度方位測定とa軸方位の測定が可能という特長 を生かした研究は未だ初期段階であるが、氷床氷のa 軸方位の異方性分布の発見や単純せん断変形により生じ た再結晶粒のa軸方位がせん断方向と一致する傾向が あること、亜結晶粒界間の方位角度差の測定による方位 関係の分類等、これまでにない新しい知見を得ることが できた.また、高空間分解能測定が可能であることか

ら,氷床氷以外の微小氷結晶の方位測定にも応用されて おり,装置の適用範囲も広がりつつある.本装置を用い た研究の主な目的は氷床の内部構造の理解であるが、結 晶方位の深さ分布の詳細を明らかにするには相当量の測 定が必要になる、測定速度の向上は必須であり、現在も 改良を進めているが,明らかになりつつある特殊な結晶 方位分布や結晶組織は,地質学で研究されているものと 類似しており、その実験方法や結果の解釈は氷床の研究 にも参考になる点が多い.氷床コア研究においては,化 学的な手法による地球の気候・環境変動の歴史の解明が 注目されているが、氷床の内部構造と氷の力学的特性に 関する知見を基に過去数十万年間にわたり氷が置かれて いた物理的環境の変化と将来の氷床の変動を予想するこ とは,地球変動システムを理解する上で重要なテーマで ある.地質学の知識も導入し,研究を進展させることに よって,氷床の内部構造の理解を目的とした新たな氷床 コア掘削の提案にもつながることが期待される.

謝辞

本研究を進めるにあたり,X線ラウエ装置のステージ 部分およびX線シャッターコントローラ等の電子機器は 低温科学研究所技術部に設計,製作していただいた. GRIP コア試料の使用については,北見工業大学の庄子 仁教授,および欧州 GRIP 計画関係者に許可をいただ き,便宜を図っていただいた.また,装置の開発は日本 学術振興会科学研究費補助金14 GS 0202,22540426 の 助成を受けて行われた.ここに深く感謝の意を表しま す.

参考文献

- Azuma, N. and A. Higashi. (1985) Formation processes of ice fabric pattern in ice sheets. Ann. Glaciol., 6, 130–134.
- Azuma, N. (1995) A flow law for anisotropic polycrystalline ice under uniaxial compressive deformation. *Cold Reg. Sci. Technol.*, 23(2), 137-147.
- Castelnau, O., H. Shoji, A. Mangeney, H. Milsch, P. Duval,
 A. Miyamoto, K. Kawada, O. Watanabe. (1998)
 Anisotropic behavior of GRIP ices and flow in central
 Greenland, *Earth Planet. Sci. Lett.*, 154(1-4), 307-322.
- Dahl-Jensen, D., N. S. Gundestrup, H. Miller, O. Watanabe, S. J. Johnsen, J. P. Steffensen, H. B. Clausen, A. Svensson and L. B. Larsen. (2002) The NorthGRIP deep drilling programme. *Ann. Glaciol.*, 35, 1–4.
- Glen, J. W. (1955) The creep of polycrystalline ice. Proc. Roy. Soc. London, Ser. A, 228(1175), 519–538.
- Higuchi, K. (1958) The etching of ice crystals. *Acta Metall.*, **6**(10), 636–642.
- Langway, C. C., Jr. (1958) Ice fabrics and the universal stage. SIPRE Tech. Rep. 62.
- Langway, C. C. Jr., H. Shoji and N. Azuma. (1988) Crystal size and orientation patterns in the Wisconsin-age ice from Dye 3, Greenland. *Ann. Glaciol.*, **10**, 109-115.
- Li J., T. H. Jacka and W. F. Budd. (2000) Strong singlemaximum crystal fabrics developed in ice undergoing shear with unconstrained normal deformation. *Ann. Glaciol.*, **30**, 88-92.
- Matsuda, M. (1979) Determination of a-axis orientations of polycrystalline ice. J. Glaciol., **22**(86), 165–169.
- Miyamoto, A. (1999) Mechanical properties and crystal textures of Greenland deep ice cores. (Ph.D. thesis, Hokkaido University.)
- Miyamoto, A., H. Narita, T. Hondoh, H. Shoji, O. Watanabe, D. Dahl-Jensen, N. S. Gundestrup and H. B. Clausen. (1999) Ice sheet flow conditions deduced from mechanical tests of ice core. *Ann. Glaciol.*, 29, 179-183.
- Miyamoto, A., H. Shoji and K. Hyakutake. (2002) The effect of hydrostatic pressure on crack formation in ice single crystals. *Mem. Natl. Inst. Polar Res. Spec. Issue*,

56, 287–294.

- Miyamoto, A., K. Shimohara, K. Hyakutake, H. Shoji, H. Narita and T. Hondoh. (2003) Mechanical anisotropy of deep ice core samples by uniaxial compression tests. *Mem. Natl. Inst. Polar Res. Spec. Issue*, 57, 168-177.
- Miyamoto, A., H. Shoji, A. Hori, T. Hondoh, H. B. Clausen and O. Watanabe. (2005) Ice fabric evolution process understood from anisotropic distribution of a-axis orientation on the GRIP (Greenland) ice core. *Ann. Glaciol.*, 42, 47–52.
- Miyamoto, A., H. Shoji, T. Hondoh, H. B. Clausen and O. Watanabe. (2005) New consideration of ice fabrics development in the light of a-axes orientation of the GRIP and the Dome Fuji ice core. *Geophysical Research Abstracts*, 7, 06544.
- 宮本 淳,本堂武夫,庄子 仁(2005)氷床深部氷の単純せん断変形実験.第28回極域気水圏シンポジウムプログラム・講演要旨,34.
- Miyamoto, A., I. Waikusat and T. Hondoh. (2011) Complete determination of ice crystal orientation using Laue X-ray diffraction method. *J. Glaciol.*, **57**(201), 103–110.
- Mori, Y., T. Hondoh and A. Higashi. (1985) Development of anautomatic ice fabric analyser. *Ann. Glaciol.*, **6**, 281– 283.
- 武田一夫, 宮本 淳(2010)土の凍結に伴う析出氷の結晶構 造の特性.雪氷研究大会(2010・長岡)講演要旨集, 93.
- Taylor, K. C., C. U. Hammer, R. B. Alley, H. B. Clausen, D. Dahl-Jensen, A. J. Gow, N. S. Gundestrup, J. Kipfstuhl, J. C. Moore, and E. D. Waddington. (1993) Electrical conductivity measurements from the GISP2 and GRIP Greenland ice cores. *Nature*, 366, 549–552.
- Wang, Y. and N. Azuma. (1999) A new automatic icefabric analyzer which uses image-analysis techniques. *Ann. Glaciol.*, 29, 155–162.
- Weikusat, I., A. Miyamoto, S. H. Faria, S. Kipfstuhl, N. Azuma and T. Hondoh. (2011) Subgrain boundaries in Antarctic ice quantified by Laue X-ray diffraction. J. *Glaciol.*, 57(201), 111–120.
- Wilson, C. J. L., D. S. Russell-Head, K. Kunze and G. Viola. (2007) The analysis of quartz c-axis fabrics using a modified optical microscope. J. Microsc., 227(1), 30-41.

不凍糖タンパク質の 氷/水界面吸着と結晶成長制御

古川 義純, Salvador Zepeda[†], 宇田 幸弘¹, 中谷 浩之[§], 中坪 俊一

2013年 | 月 | 8 日受付, 2013年 | 月 21 日受理

寒冷な環境に住む変温動物には、体液を過冷却状態に保ちながら凍結することなく生き延びること が出来るものがいる.これは、寒冷な環境になると生体内に生成される特殊な不凍糖タンパク質が、 体液中に生成した氷結晶界面に吸着することで、氷の結晶成長を抑制するためである.蛍光分子でラ ベルした不凍糖タンパク質分子の水溶液を冷却し、その中で氷結晶が成長させることで、タンパク質 分子と氷結晶との相互作用をその場観察することが初めて可能となった.本解説では、氷結晶成長界 面でのタンパク質の吸着・拡散挙動、結晶成長の抑制との関連、不凍糖タンパク質の界面への2段階 可逆吸着など、不凍糖タンパク質の凍結抑制機構に迫る最新の成果について紹介する.

Ice/water interface adsorption of antifreeze glycoprotein and its effect for inhibition of ice growth

Yoshinori Furukawa, Salvador Zepeda, Yukihiro Uda, Hiroyuki Nakaya, Shunichi Nakatsubo

In situ observations of ice crystal growth in the supercooled solution of antifreeze glycoprotein (AFGP) labeled by the fluorescent molecule were carried out based on the one-directional growth and free growth methods. Diffusion, adsorption, rejection and incorporation processes of AFGP molecules at/in front of the growing interface were clearly observed even at low concentrations. Analysing the fluorescent intensity distribution on each image, we found that the AFGP adsorption proceeded in two steps, namely from weak to strong adsorption states. Furthermore, the adsorption was reversible even under the strong adsorption state. We introduce the recent experimental results and the new adsorption model of AFGP molecules on ice interface.

1. はじめに

液体の水は,生き物の生命維持にとって必要不可欠な 物質である.しかし,氷点下では水は固相の氷に変わる ため,体温が環境温度に近い変温生物にとっては,その 生存を脅かすものに変貌する.たとえば,細胞内の水が 完全に凍結すると,その組織は破壊され生物は死滅して しまうはずだ.しかし実際には氷点下の極限環境のなか でも多くの変温生物が凍結することなく,生命活動を維 持している (Scholander et al., 1957).すなわち,これ

北海道大学低温科学研究所

- [†] 現所属: CCZ Crystal R&D, MEMC Electronic Materials, Inc.
- ¶現所属:住友化学株式会社
- § 現所属:三菱化学株式会社
- Institute of Low Temperature Science, Hokkaido University

E-mail: frkw@lowtem.hokudai.ac.jp

らの生き物は進化の過程で,凍結から身を守るための何 らかの戦略的なしくみを獲得しているのである.

このしくみのうち最も単純なものは,生体内液体成分 の糖や電解質の濃度を高くし、それらのモル濃度に比例 して融点が低下するいわゆるモル凝固点降下を利用する ものである. すなわち, 平衡論的な原理で凍結を防ぐメ カニズムで,植物や菌糸類にこの戦略を取るものが多 い.一方,液体成分の融点を変化させることなく,冷却 されても過冷却状態を維持したままで,凍結することな く生命活動を維持する生き物もある.これらの生き物 は、どのような戦略で凍結を防いでいるのであろうか. すなわち,これらの生き物は,「自身の生体内で *氷結 晶の成長を制御する機能"を持つ特殊なタンパク質を生 成し、それらが氷結晶と水の界面に吸着することで氷結 晶の成長を物理的に阻止する」という驚くべきしくみを 獲得しているのである(Davis and Hew, 1990). このよ うなしくみは、海氷で覆われた極海に住む魚(Yeh and Feeney, 1996) や寒冷圏に住む陸生昆虫 (Graham et al., 1997; Liou et al., 2000), 植物(Atici et al., 2003), バクテリア(Gilbert et al., 2004; Kawahara et al., 2007)などで, 普遍的に見られることが明らかになって おり,それぞれ多くの種類のタンパク質が同定されてい る.この現象は,氷の界面構造や結晶成長機構,そして タンパク質の氷結晶との相互作用などさまざまな素過程 が複雑に絡み合って起きるものであり,まさに非平衡論 的な原理を生き物がうまく利用している典型的な例と言 えよう.

このような特徴を持つタンパク質分子そのものの構造 や機能についての研究は生物学や化学の分野で極めて盛 んであるが、その一方で氷/水界面でのタンパク質分子 の挙動や氷の結晶成長を制御する物理的なしくみについ ては,未解明な部分が多い.その大きな理由は,氷/水 界面で起きる、タンパク分子が関与したダイナミックな 結晶化の過程を直接観察することが困難であったためと 考えられる.一方で、生物実験などではタンパク質分子 に蛍光分子をラベルとして付けることで、蛍光顕微鏡な どによりタンパク質分子の局所的な分布状況から分子1 個1個の挙動に至るまでを,直接観察する実験手法が活 用されている.我々は、この手法を氷の結晶成長実験に 導入し,結晶成長に伴う界面でのタンパク質の挙動をそ の場観察してきた.この解説では、タンパク質分子への 蛍光ラベル法で可能となった氷の成長特性とタンパク質 の成長界面での挙動に関する最新の実験成果を取りまと めて, 生体の凍結抑制機構の理解がどこまで進んだかを 紹介する.

2. 不凍(糖)タンパク質とその機能の特徴

最初に,生体の凍結を抑制する機能を持つタンパク質 について,その特徴と機能をまとめておこう.

このような機能性タンパク質が最初に発見されたの は、極地の海氷下から採取された魚の血液中であった (DeVries and Wohlshalg, 1969).一般に魚の血液は約 1.5%の塩分を含むが、海水の塩濃度(3%)よりも低 く、融点はそれぞれ-0.9°Cと-1.9°Cとなる.変温動物 である魚の体温は環境相の温度(すなわち、海水の融 点)に一致するので、海氷下に住む魚の血液温度は、約 1 K の過冷却状態におかれることになるが、血液が凍 結してしまうことは無い.このような魚から採取した血 液中から、いくつかの特殊なタンパク質が同定され、そ れらの存在が凍結抑制と密接に関連することが明らかに なっている.

これらのタンパク質は、糖鎖を持つ構造のものと持た ない構造のものが同定され、それぞれ不凍糖タンパク質 (Antifreeze glycoprotein; AFGP) と不凍タンパク質 (Antifreeze protein; AFP) と呼ばれている.前者は、 アラニン-アラニン-スレオニン (Ala-Ala-Thr)のト リペプチドに糖鎖が結合した糖ペプチドを1ユニットと し,それが4~52個も連なったひも状構造を持つ(図 1).分子量はユニット数に応じて2.6~33 kDaで,分 子量の大きいものから順に8つのタイプ(AFGP1~8) に分けられている(DeVries et al., 1970).水中での分 子の2次構造は,拡張ランダムコイル状(Extended random coil)が基本で柔軟性が高い(Lane et al., 2000).後者は,それぞれ大きく異なる構造をもつ3種 類が同定されており,それぞれ AFP Type I~IIIと呼 ばれている(Yeh and Feeney, 1996).

この機能性タンパク質による凍結抑制の原理は,基本 的に氷結晶の核生成を抑制するのか,あるいは結晶の成 長を抑制するのかのいずれか関連していることは,説明 を要さない.我々は,上記の4つのタイプの不凍(糖) タンパク質(今後はAF(G)Pと表記)を使って,氷の 結晶成長実験を行っている.本稿では混乱を避けるため に,不凍糖タンパク質(今後AFGPと表記)の場合に 限定して解説する.まず,AFGPの関与する氷結晶の 成長について,明らかになっている点について簡単にま とめておこう(Yeh and Feeney, 1996;古川ほか, 2010).ここに述べる特徴は,AFPにおいても同様に観 察されることを注意したい.

(1) AFGP 水溶液を容器に入れて、平衡を保ちながら ゆっくり冷却するときに起きる現象を、図2(a)に示 す温度変化に沿って思考実験してみる.水溶液の温 度が、水の融点($T_e = 0$ °C)以下になると氷の微 結晶が発生する.本来、モル凝固点降下により融点 は0°Cより低いはずだが、容質の分子量が大きいの で水溶液のモル濃度は極めて小さくなり、この効果 は無視して良い.温度が T_e 以下の過冷却状態にな ると、水溶液中には氷微結晶が生成されるが、それ らは水溶液中に安定して存在するだけで、すぐには 成長を継続しない.温度がさらに下がり、ある臨界 温度(すなわち、凍結温度 T_f)に達すると氷結晶 は突然成長を開始する.一方、 T_f 以下では水溶液



図1 AFGPを含む南極タラ(上図)とAFGPの分子構造 (下図).だ円で囲ったポリペプチドを1ユニットとして、4 ~52 ユニットがひも状に連なっている.

は完全に凍結するが、この状態から温度を上昇させても、もとの融点である T_e に達するまで融解を開始しない.すなわち、AFGPが存在する場合には、 $T_f < T_e$ となり、両者の温度差 ΔT (= $T_e - T_f$)を熱ヒステリシスと呼ぶ. ΔT の大きさは、AFGP 濃度に依存し、モル凝固点降下で予測される融点低下の500倍以上の大きさに達する.すなわち、AFGPの機能は、氷結晶の核生成に対する効果ではなく結晶成長に対する効果である.

(2) △T の温度範囲にあるタンパク質水溶液中の氷結晶の形状は,氷の c 軸方向に伸びた重六角錐(hexagonal bipyramid)である(図 2 (a)). 一般に,結晶の外形は,成長速度の速い面から消失し,最終的に最も成長速度の遅い結晶面で囲まれるので,重六角錐の稜面が最も成長速度の遅い面となる.一方, △T より過冷却度大きくなると氷結晶は成長を開始し,その成長形はタンパク質濃度に大きく依存する(Harrison et al., 1987).図3は,AFGP水溶液中で成長する氷結晶の写真である.純水中では,平らなベーサル面で挟まれた薄い円盤状の結晶形であるが,AFGPがわずかに含まれるだけでも平らなプリズム面が現れ,六角板結晶となる.濃度上昇とともに徐々に c 軸方向に伸びた多面体の成長形となり,さらに高濃度では針状結晶が生成される.この



図2 (a)熱ヒステリシスを示す模式図. この領域では、氷結 晶は重六角錐の形状で存在するが、成長は完全に抑制されて いる.(b)氷結晶の成長抑制を説明する Gibbs-Thomson モデ ル.吸着した AFGP 分子により、界面の成長がピン止めさ れる.このため、分子間の氷界面は前方に凸の曲率半径 rを持つ球面となり、界面の融点は Gibbs-Thomson 効果によ り、バルクの融点(T_e)より低下する.温度がさらに低下 し、rが AFGP の分子間距離の半分(r_{min})より小さくなる と、ピン止め効果が消失して界面は成長を開始する.した がって、結晶成長抑制の最大の過冷却度温度は、 $r = r_{min}$ と なる温度で、 $\Delta T = T_e - T_f$ が熱ヒステリシスの大きさにな る.

ような成長形の濃度依存性は、AFGPにより氷の プリズム面は成長抑制,ベーサル面では逆に成長促 進が起きていることを示唆している.すなわち, AFGPの効果は異方性が強い.

(3) AFGP による結晶成長の抑制機構として,界面吸 着した分子による界面(あるいは、成長ステップ) のピン止め効果が提案されている (Raymond and DeVries, 1977; Knight and DeVries, 1989). $\boxtimes 2$ (b) は、ピン止め効果による界面の局所形状の温度変化 を示す模式図である.吸着した AFGP 分子は界面 の移動をピン止めするので,隣接した分子の間の界 面は前方(融液側)に出っ張り,曲率を生じるため 界面の融点は低下する (Gibbs-Thomson 効果). 界面が前進すると曲率が増加し, それとともに局所 界面融点は低下する.やがて、その融点が環境相の 温度と一致すると, それ以上の界面の前進は抑制さ れる (Wen and Laursen, 1993; Sichheri and Yang, 1995). T_eと T_fの間ではこの機構で成長が抑制さ れるが, T_fでは界面の局所曲率半径は吸着分子間 隔の1/2に一致するため,界面はピン止めされた点 をすり抜けることが可能となり、この機構はもはや 有効ではなくなる.このため、この温度以下では、 氷結晶の成長が開始し,吸着した AFGP 分子は結 晶内に取り込まれるであろう (Knight et al., 2001).

AFGP の氷結晶成長に対する効果は,以上のように 極めて興味深い特性をもつ.しかし,AFGP 分子がど のような界面吸着特性を示し,それが結晶の成長をいか にして抑制しているのかは,直接実験的に確認すること は,困難である.このため,吸着分子のピン止め機構で 氷結晶の成長が実際に抑制されているのかどうかについ ても,十分な証明がされているとは言い難い.その要因



図3 AFGP 水溶液中で成長した氷結晶.(a)~(d)は,そ れぞれ AFGP 濃度が 0,0.01,0.2,5 mg/ml に対応す る.スケールバーは,すべて 500 µm.

は、この分野の研究がタンパク質科学や生化学的視点で なされることが多く、界面科学や結晶成長学などの物理 的視点に欠けていたこと(Knight, 2000),さらに氷/水 界面及びその近傍でのタンパク質分子の挙動を直接観察 する手法が乏しいことにある.我々は、この点に注目し て、AFGPの氷結晶成長の制御機構を解明することを 目指して、物理的視点での研究を行ってきた.次章以下 では、二つの異なる結晶成長手法(一方向成長法と自由 成長法)と蛍光ラベル法によるタンパク質分子の可視化 手法とを組み合わせて実施した実験的研究の成果につい て、その概要を紹介する(Zepeda et al., 2008a).

一方向成長法による氷成長界面近傍での不凍 糖タンパク質の拡散

3.1 一方向成長法

一方向成長法は、空間に固定した温度勾配を作り、その勾配に沿った方向に薄膜状の結晶成長セルを一定速度で強制的に平行移動させて、結晶を成長させる方法である(Nagashima and Furukawa, 1997a; 1997b; 2000). 実験システムの模式図を、図4に示す.2つの銅ブロックを10 mmの間隔をおいて水平に並べ、スライドガラス2枚を50~100 μ mの隙間を空けて重ね合わせた結晶成長セルに AFGP 水溶液を充塡し、両ブロックを跨ぐように置く.両ブロックは、ペルチェ素子によって独立に温度制御され、低温側ブロックの温度(T_L)と高温側ブロックの温度(T_H)を一定に保つと、両者の隙間にかかる成長セル内には直線的な温度勾配が生じる.この時、 T_L を水溶液の融点以下、 T_H を融点以上にすると、成長セル内の低温側の水溶液は結晶化し、セルの温



図4 氷結晶の一方向成長実験装置の模式図.

度がちょうど融点に一致するに位置に固液界面が形成される.この様な状況で,結晶成長セルを高温側から低温 側に一定速度で強制的に移動させる.この結果,界面で はセルの移動とは反対方向への結晶成長が強制されるこ とになり,界面の位置は見掛け上同じ位置に留まる.す なわち,この結晶成長法では,結晶成長セルの移動速度 を変えることで,成長速度を実験パラメーターとして制 御できる.このことは,他の成長法では実現すること不 可能な大きな特徴である.さらに成長界面が見掛け上同 じ位置に留まるので,界面やその近傍で起きる現象の時 間経過をその場観察するために好都合である.

この装置で氷の結晶成長実験を行い,AFGP分子の 界面と界面近傍での挙動をその場観察するため,蛍光分 子である FITC (Fluorescein isothiocyanate isomer-I) でラベルした AFGP 分子を使った.この実験システム は,透過型位相差蛍光顕微鏡のステージに設置され,位 相差画像と蛍光画像を切り替えながら,氷の結晶成長過 程を観察した (Zepeda et al., 2007).

3.2 成長界面に吸着した AFGP の可逆離脱と拡散

図5は、成長セルを一定速度(5µm/s)で移動させた場合の、氷界面周囲の位相差画像と蛍光画像の一例を示す.水溶液の初期濃度は0.1 mg/ml(重量比では、0.01 wt%に相当する)である.位相差画像(図5(a))では、界面の位置が明確に観察されるが、結晶内(右側)や溶液内には何も観察されない.しかしながら、同じ画面の蛍光画像(図5(b))では、界面をはさんで水溶液側と結晶側ではコントラストが大きく異なる.図に示す白枠内で界面に直交する方向(X方向)での蛍光強度分布を見ると、結晶内では蛍光は検出されないが、水溶液側では界面での強度が最大となり界面から離れるにし



図5 一方向成長している界面前方で観察された蛍光強度分 布.AFGPの初期濃度,0.1 mg/ml.成長速度5μm/s.(a) 位相差顕微鏡画像,(b)蛍光顕微鏡画像,(c)蛍光画像に示され た白枠矩形領域の中でもとめたX方向蛍光強度分布.蛍光強 度は,矩形のY軸方向に積分した値である.
たがって指数関数的に減衰する(図 5 (c)). この場合, 結晶セルは薄膜状であるため,観察された蛍光強度は蛍 光分子の空間数密度(AFGP 濃度)に比例する. すな わち,結晶の成長界面前方に発達した AFGP の拡散場 が観察された.また,氷結晶側では蛍光強度がゼロで あったことは,氷結晶の成長に伴って結晶内部へ AFGP 分子が取り込まれることはないことを示す,直 接的な証拠と言えよう.

さらに、成長を継続させると拡散場は定常状態に達す るが、この状態でセルの移動を突然停止すると、界面前 方の拡散場は時間と共に減衰する.図6は、界面前方で のAFGP 濃度分布の時間経過を示している.減衰過程 での界面前方の蛍光強度分布は、単純な指数関数的では ないことがまず注目される.このような分布が生じるた めには、界面から水溶液内へのAFGPの流入が必要で ある.結晶の成長はすでに停止しているので、この流入 は界面に吸着していたAFGP分子が離脱することに よって生じる.また、界面において蛍光強度の鋭いピー クが観察されるが、これも界面にAFGPの吸着層が存 在することを示唆している.すなわち、これらの観察結 果は、界面に吸着したAFGP分子は結晶の成長が停止 すると可逆的に離脱することを意味している.

また,界面前方に観察される拡散場の減衰過程から, AFGPの水溶液中での自己拡散係数を求めることが出 来る.この方法で求めた拡散係数は, $(1.0\pm0.1) \times$ $10^{-10}m^2/s$ となり,NMR (Nuclear Magnetic Resonance)で測定された拡散係数 (Krishnan et al., 2004) の値 $(0.9 \times 10^{-10}m^2/s)$ とよく一致する.

3.3 成長界面のパターン形成とAFGPの分布

一方,成長セルの移動速度を上昇させると,界面はも はや平らな形状を保つことができなくなり,形態不安定 化が生じる(Furukawa et al., 2005)最終的に,界面形 状は,図7(a)と(b)に示されるようなファセット面で囲ま れた周期構造を持つジグザグパターンを生じ,定常状態 に達する.界面前方でのAFGPの濃度分布を求めた結



図6 一方向成長で成長を停止した界面からの AFGP 分子 の離脱,拡散の時間変化(0分から20分まで,2分ごとに プロット).拡散場は,単純な指数関数的な濃度分布ではな い.これは,界面に吸着した AFGP 分子が定常的に離脱し ていることを示している.

果(図7(c))は,界面が平らな場合に較べて拡散場の発 達が大幅に抑制されている.しかしながら,結晶の粒界 を横切る方向で求めた AFGP 濃度分布(図7(d))では, 結晶格子内には AFGP は取り込まれず,粒界面に蓄積 されたことを示している.

これらの観察結果は、氷結晶成長に伴い、AFGPは 結晶格子に取り込まれることはなく、すべて界面前方に 排斥されるが、結晶粒界が生じると、粒界に AFGP が 濃縮されて取りこまれるため、成長界面前方の拡散場の 発達は抑制されることを示唆している.

自由成長法により観察された不凍糖タンパク 質の界面吸着と結晶成長抑制

4.1 自由成長法

一方,自由成長法では,一様に過冷却した水溶液中で 1個だけの氷単結晶を成長させる.前章と同じように, 結晶成長の母液として蛍光分子でラベルした AFGP 水 溶液を使用した.この方法では,水溶液中で一様に分散 していた AFGP 分子が,氷/水界面や結晶内部に再配分 される過程と,それが結晶の成長速度や形態にどのよう に関連しているかを観察できる.

実験装置は,銅ブロックをくりぬいて作製した円筒型 の成長セル(直径 20 mm,奥行 10 mm)に,外部から セルの中心部までガラス毛細管を挿入した単純な構造で ある.毛細管は,ホルダーにより軸の周りに自由に回転 できる.成長セルと毛細管に充てんされた水溶液は,銅 ブロックに取り付けたペルチェ素子で冷却され,±5 mKの精度で安定した過冷却状態を作り出すことができ る(Zepeda et al., 2009).



図7 成長速度が大きくなると、一方向成長界面では形態不 安定化が発生し、やがて周期的なジグザグパターンで定常状 態に達する.このとき、AFGPは、結晶の粒界に取り込ま れるため、形態不安定化前の平らな界面に較べて、界面前方 でのAFGP 拡散場の発達が抑制される.(a)位相差顕微鏡画 像、(b)蛍光顕微鏡画像、(c)蛍光顕微鏡画像の矩形枠 c に対し て測定された蛍光強度分布から求めた AFGP 濃度分布.(d) 同じく、矩形枠 d における濃度分布.

実験手順は、以下のとおりである.まず AFGP 水溶 液全体が所定の過冷却温度に到達したら、成長セルの外 側に突き出した毛細管の端を急冷して氷を核生成させ る.生成された結晶粒は、毛細管内部で軸方向に成長を 継続するが、氷の成長速度の異方性から、軸に沿った成 長速度の速い結晶粒ほど前方に突出するので、結果的に 結晶粒の取捨選択が進行する.このようにして、最終的 に1個の結晶粒のみが生き残り、その結晶粒が毛細管先 端に達すると、成長セルの中で氷単結晶が自由成長を開 始する.氷結晶は、c軸に直交する向き(a軸方向)の 成長速度が速いので、生き残った結晶粒は、そのc軸が 毛細管の軸に直交する確率が高くなる.すなわち、毛細 管内での成長により、結晶粒の数と結晶の向きが自動的 に制御される.

結晶成長の観察には、スペクトラム共焦点顕微鏡を 使った.この顕微鏡は、レーザー光の焦点を走査させて 観察体の三次元画像を取得するものであるが、本実験で は、時間分解能を向上させるために二次元平面内の走査 に固定して観察を行った.FITCの励起波長のレーザー 光を光源として照射し、その蛍光波長(520 nm)でイ メージングすることで、観察面内の蛍光強度分布の画像 を取得することができる.

4.2 氷結晶の自由成長と AFGP の分布

図 8 (a)は, 過冷却状態にある AFGP 水溶液中で, 毛

細管の先端から自由成長する氷単結晶の蛍光画像である.この場合の成長条件は,水溶液の初期過冷却度は, 0.05 K (実際の温度が-0.05°C),及び AFGP の初期濃 度は5 μ g/ml (すなわち,0.0005 wt%)であった.毛 細管の先端に六角形の薄い板状結晶が観察される.図8 (b)は,毛細管を90°回転して氷結晶の断面を観察した明 視野画像であるが,結晶の厚みがおよそ40 μ mである ことが分かる.純水や塩などの無機分子の水溶液の中で 成長する氷結晶では,図8(c)に示すようにプリズム面が 平らな面として観察されることは無い(Yokoyama et al.,2011)ので,このような六角板状結晶が観察された ことは AFGP の結晶形に対する効果が低濃度であって も極めて大きいことを示している.

図9は、この六角板結晶の成長過程を示す連続写真で ある.結晶のプリズム面(六角板の側面)に注目する と、成長が継続しているもの(界面2)と完全に停止し ているもの(界面1,3,4)が同時に存在していること が分かる.また、成長停止した界面では、界面に沿って 強い蛍光の輝線が観察されるが、成長中の界面では観察 されない.この輝線は、氷/水界面に吸着した AFGP 分 子によって生じたものであると考えられる.すなわち、 この画像は、AFGP 分子の氷/水界面への選択的な吸着 が結晶成長の抑制を引き起こすことを、初めて実験的に 証明したことになる.



図8 (a) AFGP 水溶液中で自由成長により得られた氷結晶の共焦点蛍光画 像.界面2は成長を継続しているが,界面1,3,4は成長が停止してい る.(b)氷結晶をガラス毛細管の周りに90°回転して,横方向から観察した 共焦点明視野画像.(c)同じ過冷却度の純水中で成長した薄い円盤状の氷結 晶.(d)共焦点蛍光画像に示す矩形枠dの短軸方向で積算した蛍光強度を長 軸方向にプロットしたもの.左縦軸は蛍光強度であるが,AFGPの濃度に 換算可能で,右縦軸にプロットした.界面位置に鋭い蛍光強度のピークが 観察される.このピークは成長を継続している界面では観察されない.右 下の図は,共焦点顕微鏡の光学系を示す模式図で,結晶を含む約100 µm のスライス面からの蛍光だけを検出できる.



図9 図8で示した同じ氷結晶の成長過程を示す.各写真 は,約2秒間隔.界面2は成長を継続しているが,界面1, 3,4は成長が完全に停止している.これらの面に沿って, 蛍光の明るい輝線が観察される.

4.3 AFGP 分子の界面吸着密度の推定

これらの蛍光画像は, 共焦点型の顕微鏡で得られたも のである. 共焦点顕微鏡の焦点深度はおよそ 100 μm で ある(図8右下)ので、一枚の2次元画像で示される蛍 光強度は, 試料をこの厚みでスライスした薄膜の中に分 布する蛍光分子の空間数密度に比例する.したがって, 一方向成長実験で得られた画像と同様に,画像の蛍光強 度から AFGP の濃度分布を推定することが可能である. たとえば、図8(a)に示された矩形領域dについて、図8 (d)のような蛍光強度分布が得られた.毛細管の領域(左 端)と水溶液の領域(右端)では、AFGP濃度が明ら かなので、縦軸の蛍光強度を濃度に変換することが可能 である.中央部の結晶領域については,焦点深度(100 μm)内に氷結晶(厚さ40μm)と水溶液(60μm)の 両方が含まれる.結晶を毛細管の周りに90度回転させ て蛍光強度を測定すると,氷結晶内部では蛍光が全く観 察されないことが確認されており、結晶内の AFGP 濃 度はゼロであることが保証される.したがって、この領 域で測定された蛍光強度はすべて水溶液中にある AFGP からの寄与である.実際にこの領域で観察され た蛍光強度は、水溶液のみの場所の蛍光強度のおよそ 60%の強度である.

一方,図8(d)に示すように,成長が停止した界面において観察される蛍光の輝線に対応する蛍光強度ピークは,六角板結晶の側面(プリズム面)に吸着した AFGP分子からの寄与を反映している.結晶の厚み (40 µm)から側面の面積を計算できるので,この側面 へのAFGP分子の吸着分子数を推定することが可能で ある.その結果,側面に吸着したAFGP分子の吸着間 隔は, $d=21\pm 4$ nm と計算された. AFGP 分子 1 個の 大きさはおよそ 3 nm であるので, この面の AFGP 分 子による被覆率は, 10%以下に過ぎない.また, この値 は, Pertaya et al. (2007; 2008) が求めた AFP 水溶液 (濃度が 0.3-3 mg/ml) 中での, 氷/水界面への AFP 分 子の吸着間隔 $d=20\pm 5$ nm と数値的には一致する.し かしながら,水溶液濃度は両者でおよそ 200 倍もの差が あることに注意が必要である.すなわち,我々の解析結 果は,水溶液中の AFGP 濃度が極めて低い場合でも, 結晶成長により界面に濃縮されて,高濃度の分子吸着が 生じることを示している.このことは,一方向成長で観 察された界面吸着とも一致する.

4.4 界面吸着した AFGP 分子の再離脱

一方向成長実験では、結晶の成長が停止すると界面に 吸着していた AFGP 分子は離脱し、水溶液中に再拡散 することが示された.自由成長では、界面に吸着した AFGP 分子は、そのままで安定してその状態を保つの であろうか? 図9で示した氷結晶の成長過程で、注目 すべきもう一つの現象が観察された.結晶成長を継続し ている界面2は、成長が停止した界面1と3に挟まれて いるので、図9の連続写真に示すように成長ともに徐々 に縮小していく.図10はそのあとに観察された成長過 程の連続写真を示す.界面2が消失した瞬間(図10(a)) に、先端部から界面3の上を新しい成長ステップが移動



図10 図9で示した氷結晶の成長のその後を示す連続写真 と各画像の矩形枠内でのAFGP 濃度分布の解析結果.画像 の間隔は約2秒.界面2が消失すると同時に,それまで停止 していた界面3の上に成長ステップが観察され,そのまま成 長を継続した.同時に,界面に吸着していたAFGP分子は 離脱し,水溶液中に再拡散する.この過程は,界面近傍の AFGP 濃度分布の経過にも明確に観察される.

するのが観察され、そのまま成長が再開した(図10 (b)).界面3の成長開始と同時に界面に沿った蛍光輝線 も消失した.図10右側には、写真に示した白枠内での 蛍光強度分布から計算された AFGP 濃度の分布が示さ れている.成長が停止している時には、明確に界面に ピークが見られるが、成長が再開した瞬間に消失した. 界面から水溶液に向かってわずかではあるが濃度が指数 関数的に減衰する様子も観察された(図10(c)).すなわ ち、界面から離脱した AFGP 分子は、水溶液側に再拡 散する.

この結果は、結晶成長の抑制が、AFGP分子の界面 への非可逆的な強い吸着によって引き起こされるという 従来の予測とは大きく異なり、吸着していた AFGP分 子は成長ステップ移動などで簡単に離脱可能であること を示すものである.

5. 不凍糖タンパク質分子の界面吸着と結晶成長 抑制機構

5.1 Gibbs-Thomson モデルは有効か?

図2で示したような「界面に吸着した AFGP 分子が 界面の移動をピン止めすることにより生じる界面融点の 低下(Gibbs-Thomson 効果)に起因して結晶成長が抑 制される」という古典的モデルの有効性について,最初 に考えてみよう.

4.3 節で求められた, プリズム面における AFGP 分子の吸着間隔から, 逆に Gibbs-Thomson 効果による界面の局所温度低下を計算すると, $\Delta T = 6 \text{ K}$ と見積もられる.この値は,水溶液の過冷却温度 0.05 K とは一致しない.また,Gibbs-Thomson 効果が作用するともともと平らであった界面が荒れて,凸凹の多いラフ面に変化するのが通常である.しかしながら,氷の結晶界面では,AFGPの作用によって逆の変化,すなわちラフな面が平らな界面への変化が観察された.これらの事実から,従来のモデルでは,AFGPの凍結抑制効果を説明することは,もはや困難であるといえるであろう.

5.2 AFGP 分子の2段階可逆吸着モデル

これらの実験で観察された AFGP 分子の氷/水界面への吸着特性から,界面への AFGP 分子の新しい吸着モデルを提案しよう.

まず,面の成長が継続して氷界面に蛍光のピークが見 られない状況であっても,側面は平らなファセット面と して観察される.純水中では,この面はファセット面と して観察されることはないので,すでに界面とAFGP 分子の間で十分な相互作用が存在することを意味してい る.すなわち,この状態ではAFGP分子の界面への吸 着と離脱が釣り合った,いわゆるラングミュアタイプの 吸着が起きていると予測される.このような吸着では, 界面の移動を停止するようなピン止め効果は期待できな 62.

一方,界面の成長が停止した場合の AFGP 分子の吸 着間隔は、およそ21 nm であった.しかし、この時の 水溶液温度は-0.05℃であるので,界面の温度も同じで あるとすれば、ギブス・トムソン効果で予想される界面 吸着間隔は、約2µmとなる.したがって、Gibbs-Thomson 効果を援用すれば,吸着した AFGP 分子の ごく一部がピン止め効果として作用すれば、十分に氷結 晶の成長抑制が作用することになる. すなわち, 界面に ある AFGP 分子には、ピン止め点として作用する *強 い吸着状態″のものとピン止め効果が作用しない 、弱い 吸着状態″のものが存在することを意味している. さら に、弱い吸着状態の AFGP 分子は、脱着が容易であり、 結晶成長が再開するとこれらの分子は結晶内に取り込ま れることはなく簡単に離脱して,水溶液中に再拡散する ことができる.この様な考察は、一方向成長で観察され た AFGP の拡散場の挙動とも一致する. 我々は、この ような特徴的な AFGP 分子の氷界面吸着を ^{*}二段階可 逆吸着 (2-step reversible adsorption) "と呼んでい る.

5.3 界面に吸着した AFGP 分子の二次構造変化

AFGP 分子の二段階可逆吸着とは,具体的にどのようなものであろうか? その回答の一つとして,氷結晶 界面に吸着状態にある AFGP 分子の二次構造の変化を 解析した実験(Uda et al., 2007)について最後に紹介する.

水溶液中でのAFGP分子は、いわゆる拡張ランダム コイルと呼ばれる二次構造(conformation)を持つこ とがNMR解析で明らかになっている.しかし、この 様な構造の分子が氷/水界面に吸着しても、氷結晶格子 との適合性が悪く、簡単には強い吸着を実現することは できない.したがって、界面に吸着したAFGP分子が 実際にはどのような二次構造を取るのかが重要なヒント を与えると考えられる.

このため、我々は ATR (Attenuated Total Reflection) 法により、氷界面に吸着した状態にある AFGP 分 子のフーリエ変換赤外分光 (Fourier Transform Infrared (FTIR) spectroscopy) を試みた. ATR 法とは、 赤外波長に透明な材料 (ZiSe) で作製した ATR プリズ ムの界面で赤外線を全反射させるとき、反射面後方に生 じるエバネセント光 (evanescent light) をプローブと して使う手法である. 図 11 に示すように、このプリズ ムの反射面に AFGP 水溶液の薄膜を試料として置き、 薄膜試料が液相の場合(a)と固相の場合(b)について、解析 を行った. この測定では、アミノ酸分子と H₂O 分子か らのスペクトル波長域の重なりを避けるため、溶媒とし て重水 (D₂O) を使った. これによって、アミノ酸分子 に敏感な波長域の FTIR スペクトルを独立に取得でき、 AFGP 分子の二次構造についての情報を得ることがで



図11 ATR プリズム表面近傍での薄膜試料の内部構造を示 す模式図.(a)は水溶液が凍結する前で、AFGP は一様に分 布している.(b)は凍結後の試料の構造.擬似液体層中に AFGP が濃縮されている.氷界面に吸着した AFGP 分子 は、 α -ヘリックス構造をとる(下部の界面拡大図参照). D_p はエバネセント光の浸出深さで、およそ1 μ m.

きる.

図 12 (a)は, FTIR スペクトルの温度変化を示す.室 温から温度をゆっくり低下させると, -15° Cで D₂O 分 子の O-D 伸縮振動バンドのピーク波数がシフトすると ともに,スペクトル形状も変化した.これは,D₂O が 液相から固相へと変化したことを意味している.このス ペクトルを詳細に解析すると,固相試料には一部液相の ままで残留する D₂O が存在する,これは氷結晶とプリ ズムとの界面,及び氷結晶粒界に残った擬似液体層に対 応すると考えられる.すなわち,試料の状況は,図11 (b)に示すように,氷粒子と粒界に残存する擬似液体層と が共存している (Sadtchenko and Ewing, 2002).

一方,アミノ酸に敏感な吸収バンドである1600~ 1700 cm⁻¹に現れるアミドIバンド(C-O 伸縮バンド) に注目すると,図12(b)及び(c)に示すように,試料が液 相と固相の場合でスペクトルに明確な変化が観察され る.このスペクトルを,AFGP分子で予測されるさま ざまなタイプの二次構造ユニットに対応するスペクトル ピークに対して,逆たたみ込み解析(deconvolution) した結果が黒の実線で示される.それぞれの相対ピーク 積分面積は,その二次構造を持つAFGP分子の数分率 に比例する.この解析の結果,試料が液相から固相に変 化すると,特に α -ヘリックス構造のコンポーネントが 顕著に増加することが見出された.この増加分は,図 11(b)に模式的に示されるように,氷粒子本体には取り こまれず擬似液体層の中に凝縮されたAFGP分子の一 部が,氷/水界面に吸着して α -ヘリックス構造に変化



図 12 (a) AFGP 水溶液薄膜から得られた FTIR スペクトルの温度変化.(b)および(c) は、Amide I バンドの吸収スペクトル(それ ぞれ、赤線と緑線)と、それを各二次構造に 対応する波数で分解した結果(黒の実線). それぞれ、液相状態と固相状態の試料に対応 する.ハッチングを入れたピークは、 α -へ リックス構造のAFGP に対応し、試料が固 相の時その配分比が顕著に上昇することが分 かる.

したために生じたと考えられる.AFGP分子は,界面 に吸着しても拡張ランダムコイル状態のままでは,分子 周期性と氷結晶格子の周期性のマッチングが悪く,吸着 力も弱い.しかし,吸着したAFGP分子がその二次構 造を変化させて,周期性が高いα-ヘリックス構造に変 化すると,氷結晶格子とのマッチングが良くなるため, より強い吸着状態が実現する.すなわち,AFGP分子 は,弱い吸着から強い吸着へと二段階で吸着状態が変化 する.弱い吸着状態のAFGP分子は,可逆的に界面か らの着脱が可能である.

以上のことから推論すれば,界面に弱く吸着した

AFGP 分子のごく一部が、その二次構造を変化させる ことで、強い吸着状態を実現する.この変化を実現した AFGP 分子だけが界面の移動をピン止めし、Gibbs-Thomson 効果の助けを借りて結晶成長の抑制を実現し ているという描像を描くことができる.氷/水界面への α -ヘリックス構造を持つタンパク質分子(AFP Type I)が界面移動のピン止め点として作用することは、計 算機シミュレーションでも証明されている(Nada and Furukawa, 2008; 2011).

6. 終わりに

AFGP 分子に蛍光分子でラベルを付けることによっ て、一様な濃度の水溶液から氷結晶が成長する際に、結 晶の成長界面近傍で分子がどのように再分布されるのか を、初めて可視化することが可能となった.これによっ て、AFGP の凍結抑制効果のメカニズムについて、さ まざまなことが明らかになりつつある.その代表的な成 果については、本文中にまとめた通りである.

しかしながら,本解説に紹介した結果は,空間的な蛍 光強度の測定から濃度分布や吸着状態の解析を行ったも のであり, 分子一個一個の挙動についての情報は得られ ていない.したがって、さらに不凍(糖)タンパク質に よる氷結晶成長の制御機構を明らかにしていくために は,界面に吸着した個々のタンパク質分子の挙動を観察 することが、極めて重要な今後の目標となる.本誌の佐 崎らの解説にも示されているように,氷結晶表面におい て水分子1個分の高さを持つ単位ステップのその場観察 が可能になっている (Sazaki et al., 2010; 2012). 近い 将来,この技術は氷/水界面での単位ステップの観察に も適用できるようになると期待される、さらに、この技 術とタンパク質分子の単分子挙動観察とを組み合わせる ことによって,成長ステップとタンパク質分子との相互 作用の直接観察も可能になるであろう.この様なその場 観察実験が実現した暁には、不凍(糖)タンパク質の氷 結晶成長制御機構の解明に向けて、さらなる大きなブ レークスルーが期待される.

謝辞

本研究の推進に当たり,学習院大学の横山悦郎教授, 産総研の灘浩樹主任研究員,大阪大学理学部の金子文俊 准教授,大阪大学蛋白質研究所の松浦良樹元教授,およ びカリフォルニア大学デービス校の Yin Yeh 名誉教授 には,実験試料の準備,実験結果の解釈,およびモデル の構築にあたり,議論と支援を頂いた.ここに記して感 謝申しあげる.

引用文献

- Atici, O. and B. Nalbantoglu (2003) Antifreeze proteins in higher plants. *Phytochemitry*, 64, 1187–1196.
- Davies, P. L. and C. L. Hew (1990) Biochemistry of fish antifreeze proteins. *FASEB J.*, 4, 2460-2468.
- DeVries, A. L. and E. Wohlshlag (1969) Freezing resistance in some Antarctic fishes. *Science*, 163, 1073-1075.
- DeVries, A. L., S. K. Komatsu and R. E. Feeney (1970) Chemical and physical properties of freezing pointdepressing glycoproteins from Antarctic fishes. *J. Biol. Chem.*, 245, 2901–2908.
- Furukawa, Y., N. Inohara and E. Yokoyama (2005) Growth patterns and interfacial kinetic supercooling at ice/ water interfaces at which anti-freeze glycoprotein molecules are adsorbed. J. Cryst. Growth, 275, 167–174.
- 古川義純, Salvador Zepeda, 宇田幸弘(2010)氷結晶成長 を支配するタンパク質 — 氷点下に生きる生物はいかにし て凍結を回避するか —. 日本物理学会誌, 65, 98-103.
- Gilbert, J. A., P. J. Hill, C. E. R. Dodd and J. Laybourn-Parry (2004) Demonstration of antifreeze protein activity in Antarctic lake bacteria. *Microbiology*, **150**, 171–180.
- Graham, L. A., Y. C. Liou, V. K. Walker and P. L. Davis (1997) *Tenebrio* antifreeze proteins. *Nature*, 388, 727–728.
- Harrison, K., J. Hallett, T. S. Burcham, R. E. Feeney, W. L. Kerr and Y. Yeh (1987) Ice growth in supercooled solutions of antifreeze glycoprotein. *Nature*, **328**, 241–243.
- Kawahara, H., Y. Iwanaka, S. Higa, N. Muryoi, M. Sato, M. Honda, H. Omura and H. Obata (2007) A novel, intracellular antifreeze protein in an antarctic bacterium, *Flavobacterium xanthum. Cryoletters*, 28, 39–49.
- Knight, C. A. and A. L. DeVries (1989) Melting inhibition and superheating of ice by an antifreeze glycopeptide. *Science*, 245, 505–507.
- Knight, C. A., C. C. Cheng and A. L. DeVries (1991) Adsorption of alpha-helical antifreeze peptides on specific ice crystal surface planes. *Biophys. J.*, 59, 409-418.
- Knight, C. A. (2000) Adding to the antifreeze agenda. *Nature*, 406, 249–250.
- Krishnan, V. V., W. H. Fink, R. E. Feeney and Y. Yeh (2004) Determination of molecular self-Diffusion coefficients using pulsed-field-gradient NMR: An Experiment for undergraduate physical chemistry laboratory. *Biophys. Chem.*, **110**, 223–230.
- Lane, A. N., L. M. Heys, N. Tsvetkova, R. E. Feeney, L. W. Crowe and J. H. Crowe (2000) Comparison of the solution conformation and dynamics of antifreeze glycoproteins from Antarctic fish. *Biophys. J.*, 78, 3195–3207.
- Liou, Y. C., A. Tochilj and P. L. Davis (2000) Mimicry of ice structure by surface hydroxyls and water of a -helix antifreeze protein. *Nature*, **406**, 322-324.
- Nada, H. and Y. Furukawa (2008) Growth inhibition mechanism of an ice-water interface by a mutant of winter flounder antifreeze protein: a molecular dynamics study. *J. Phys. Chem.*, B112, 7111-7118.

Nada, H. and Y. Furukawa (2011) Growth inhibition at the

ice prismatic plane induced by a spruce budworm antifreeze protein: a molecular dynamics simulation study. *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **13**, 19936–19942.

- Nagashima, K. and Y. Furukawa (1997a) Nonequilibrium effect of anisotropic interface kinetics on the directional growth of ice crystals. *J. Cryst. Growth*, **171**, 577–585.
- Nagashima, K. and Y. Furukawa (1997b) Solute distribution in front of an ice/water interface during directional growth of ice crystals and its relationship to interfacial patterns. *J. Phys. Chem.*, **B101**, 6174-6176.
- Nagashima, K. and Y. Furukawa (2000) Time development of a solute diffusion field and morphological instability on a planar interface in the directional growth of ice crystals. *J. Cryst. Growth*, **209**, 167–174.
- Pertaya, N., C. B. Marshall, C. L. DiPrinzio, L. Wilen, E. S. Thomson, J. S. Wettlaufer, P. L. Davis and I. Braslavsky (2007) Fluorescence microscopy evidence for quasipermanent attachment of antifreeze proteins to ice surfaces. *Biophys. J.*, **92**, 3663–3673.
- Pertaya, N., C. B. Marshall, Y. Celik, P. L. Davies and I. Braslavsky (2008) Direct visualization of spruce budworm antifreeze protein interacting with ice crystals: basal plane affinity confers hyperactivity. *Biophys. J.*, 95, 333– 341.
- Raymond, J. A. and A. L. DeVries (1977) Adsorption inhibition as a mechanism of freeze resistance in polar fishes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 74, 2589–2593.
- Sadtchenko, L. M. and G. E. Ewing (2002) Interfacial melting of thin ice films: An infrared study. J. Chem. Phys., 116, 4686-4697.
- Sazaki, G, S. Zepeda, S. Nakatsubo, E. Yokoyama and Y. Furukawa (2010) Elementary steps at the surface of ice crystals visualized by advanced optical microscopy. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **107**(46), 19702–19707.
- Sazaki, G, S. Zepeda, S. Nakatsubo, M. Yokomine and Y. Furukawa (2012) Quasi-liquid layers on ice crystal surfaces are made up of two different phases. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **109**, 1052–1055.

- Scholander, F. H., L. van Dam, J. W. Kanwisher, H. T. Hammel and M. S. Gordon (1957) Fish physiology, fish toxicology, and fisheries managemen. J. Cell. Comp. Physiol., 49, 5-24.
- Sichheri, F. and D. S. C. Yang (1995) Ice-binding structure and mechanism of an antifreeze protein from winter flounder. *Nature*, 375, 427-431.
- Uda, Y., S. Zepeda, F. Kaneko, Y. Matsuura and Y. Furukawa (2007) Adsorption-induced conformational changes of antifreeze glycoproteins at the ice/water interface. *J. Phys. Chem.*, **B111**(51), 14355-14361.
- Wen, D. and R. A. Laursen (1992) A model for binding of an antifreeze polypeptide to ice. *Biophys. J.*, 63, 1659–1662.
- Yeh, Y. and R. E. Feeney (1996) Antifreeze proteins: structures and mechanisms of function. *Chem. Rev.*, 96(2), 601–618.
- Yokoyama, E., I. Yoshizaki, T. Shimaoka, T. Sone, T. Kiyota and Y. Furukawa (2011) Measurements of growth rates of an ice crystal from supercooled heavy water under microgravity conditions - Basal face growth rate and tip velocity of a dendrite. *J. Phys. Chem.*, B115, 8739–8745.
- Zepeda, S., H. Nakaya, Y. Uda, E. Yokoyama and Y. Furukawa (2007) Diffusion, incorporation, and segregation of antifreeze glycoproteins at the ice/water interface. In: W. F. Kuhs (ed) *Physics and Chemistry of Ice*, 669–676, RSC Publishing, London.
- Zepeda, S., Y. Uda and Y. Furukawa (2008a) Directory probing the antifreeze protein kinetics at the ice/solution interfaces. J. Jpn Asso. Cryst. Growth, 35, 151-160.
- Zepeda, S., E. Yokoyama, Y. Uda, C. Katagiri and Y. Furukawa (2008b) In situ observation of antifreeze glycoprotein kinetics at the ice interface reveals a two-step reversible adsorption mechanism. *Cryst. Growth Des.*, 8, 3666–3672.
- Zepeda, S., S. Nakatsubo and Y. Furukawa (2009) Apparatus for single ice crystal growth from the melt. *Rev. Sci. Inst.*, 80, 115102(4 pages).

ラット心筋細胞の常温保存研究 -----ガス印加の影響-----

奥平 俊樹,永山 昌史,郷原 一寿,内田 努

2012年9月20日受付, 2012年12月19日受理

細胞を生きたまま保存することができれば、一つの個体から多くの実験試料を採取し安定供給する ことができ、産業分野に大きく貢献できる.しかし心臓を構成する心筋細胞など需要が多いにもかか わらず保存が困難な細胞も存在する.そこで本研究では、分散された初代ラット心筋細胞の保存条件 を、キセノンなどのガスを印加し室温以上の温度まで保存温度を引き上げる技術について検討した. 9.4~35℃の範囲で種々のガスを0.5 MPa 印加して培養液中に分散させた心筋細胞を72 時間保存 し、保存後の細胞を生理条件下で培養してその機能の正常性を評価した.その結果、不活性ガス、窒 素ガス、炭化水素ガスなどを印加した場合は、ガスを印加しなかった保存細胞との違いが見られず、 ガスの印加効果が本実験条件内では見られなかった.しかし酸素を含んだ混合ガスを印加したとこ ろ、高温まで分散状態が保たれたが、その後の培養試験で多くの細胞が劣化または死滅することがわ かり、高濃度酸素が保存期間中に細胞の接着機能に影響を及ぼすことがわかった.

Effect of gas adding on the preservation of dissociated neonatal rat cardiomyocytes at room temperatures

Toshiki Okudaira, Masafumi Nagayama, Kazutoshi Gohara, Tsutomu Uchida

If we can preserve the cells, we contribute significantly to the industrial demands by the stable supply of a number of experimental samples from one individual. However, some cells exist in high demand although it is difficult to preserve, such as the cardiomyocytes that make up the heart. In this study, we have examined the preservation technique by applying gases to rise the storage temperature limit of the dispersed primary rat cardiomyocytes. We evaluated the health of its functions under physiological conditions by culturing the cells after the storage by applying 0.5MPa gases for 72 hours at temperatures ranged from 9.4 to 35°C. As a result, we observed no difference between the preserved cells with and without applying inert gas, nitrogen gas and hydrocarbon gas in the present experimental conditions. However, we found the significant negative effect by applying the mixed gas containing oxygen during the culture test although the dispersed condition was kept during the preservation period at higher temperature. It is considered that the dissolved oxygen would inhibit the adhesion function of cardiomyocytes.

1. Introduction

心筋細胞は心臓を構成する細胞であり,近年個体を用いた動物実験の代わりとして創薬や医療の分野で薬理学的解析等に用いられるようになってきた(Simpson et al., 1982).そのため心筋細胞を安定に供給する需要が 生まれ,長期保存技術が検討されている.現状では,動物から調整された初代分散細胞を冷蔵(4~10°C)条件下で24時間程度保存できる.より長期に保存するため には冷凍保存が一般的である.冷凍保存が可能な細胞は 一般的に分裂能が高く,凍結過程で細胞数が一時的に減 少しても生き残った細胞が増殖するので培養すれば元の 細胞数に回復するという特徴を持っている.心筋細胞に ついても1950年代から凍結研究が進められている (Smith, 1957; Yokomuro et al., 2003)が,分化した心 筋細胞は分裂能をほとんど有しておらず(Tamamori-Adachi et al. 2003),冷凍保存が困難な細胞であるとさ れている.そこでUchida et al.(2011)は,心筋細胞 を冷蔵保存より高い室温でより長期間保存する可能性を 調べ,20°C以下の一定温度で72時間保存した細胞を撒 種・培養した際の細胞の接着,拍動の様子が,保存をせ ず撒種・培養した場合とほぼ同じであったことを示し

北海道大学 大学院 工学研究院 応用物理学部門 Division of Applied Physics, Faculty of Engineering, Hokkaido University

た.ところが保存温度が 20°C以上の場合,分散してい た細胞は保存期間中に凝集してしまった.心筋細胞は活 性があると細胞同士が接着する性質を持っているが,保 存期間中に細胞同士が接着して凝集してしまったという ことは,この温度条件下では細胞の活動を抑制できな かったと考えられる.このように凝集した細胞を保存期 間終了後に撒種・培養したが,接着や拍動などが正常に 行われなかった.従って室温以上で細胞を保存するため には,保存期間中の凝集を防ぐ,すなわち細胞の生命活 動を抑制することが必要であると考えた.

常温で生命活動を抑制する手段として、キセノン (Xe) ガスなどの麻酔ガスを添加する方法が提案されて いる.たとえば Xe をカーネーションや野菜に印加し、 生命活動を抑制する研究がおこなわれている(橋本・大 下,1996;Oshita et al.,1996;1999;大下他,1996; 1997;松島他,2000a;2000b;安藤他,2008). Xe は 比較的低圧でもクラスレートハイドレートを生成するガ スとして知られており、細胞内の水を構造化することで 生命活動を抑制しているのではないかと考えられてい る.そこで本研究では、動物分散細胞に対して Xe をは じめとする様々なガスを印加し、保存期間中の細胞の活 動を抑制して凝集を防ぐことができないか、またそれに より Uchida et al. (2011) で示された保存温度の上限 が室温以上に引き上げられないか調べた.

2. Experimental Procedures

- 2.1 Experimental Materials
- (1) Preparation of dispersed cells of neonatal rat cardiomyocytes

細胞は、(㈱プライマリーセルにて調整された、新生子 ラット心室由来心筋細胞を使用した.心臓は生後2-4 日齢の新生子ラットから摘出されたものを使用した.細 胞の分散処理として、心臓から分離した心室に対し、コ ラゲナーゼで37°C・15分間の酵素処理を3回行なった. 得られた分散細胞を培養容器に撒き、接着性の高い非心 筋細胞を容器に接着させることにより、懸濁液から非心 筋細胞を除去した(Kakinuma et al., 2000).最終的に 培養液中に2.0×10⁵ cells/mlの濃度で分散させた細胞 懸濁液を調製した.心筋細胞の培養液はダルベッコ変法 イーグル培地:ハムF12(1:1)混合培地に、ウシ胎 児血清10%、ペニシリン10 units/ml、ストレプトマイ シン10 μ g/mlを加えたものである.

(2) Preservation procedures and conditions

上述の細胞懸濁液を、クライオチューブ(Nunc社 製)に1mlずつ分注した.その後、クライオチューブ を高圧容器(伊藤計器製)中に静置し、大気を置換せず に各種ガスを0.5 MPa±0.1 MPa印加した.その高圧

容器ごと保存温度 9 ~35℃±0.1℃の条件下に置き,72 時間保存した.保存中の温度・圧力条件は、高圧容器に 取り付けられたブルドン管式圧力計,熱電対(Type T) により計測し、データロガー(Graphtech, GL400)で 記録した.使用したガスはキセノン(Xe; 99.995%), アルゴン (Ar; 99.995%), 窒素 (N₂; 99.99%), 及 び窒素・酸素混合ガス (N/O (50); N₂:O₂=49.6%: 50.4%)で、いずれもエア・ウオーター社製である.保 存温度 20°Cにおいてはメタン (CH₄; 99.99%), エタン $(C_2H_6; 99.9\%)$, プロパン $(C_3H_8; 91.2\%)$, 窒素・ 酸素混合ガス (N/O (5) ; N₂:O₂=95.13%:4.87%), 圧縮空気 (Air; O₂ 濃度約 21%) を、35℃ではクリプ トン (Kr;99.9%), ヘリウム (He;99.995%) を印 加した実験も比較実験として行った.実験方法のブロッ クダイヤグラムを Figure 1 に,各ガス条件での実験回 数と温度条件を Table 1 に示した.

2.2 Evaluation methods of normality on preserved cells

各温度・ガス条件下で保存した細胞は,培養ディッシュに1.0×10⁵ cells/mm²の密度で撒き,生理的条件 (温度 37°C,湿度 100%,5%CO₂ 含有空気)下で7日 間培養した.保存細胞(「ガス印加区」と呼ぶ)の正常 性を評価するため,同じロットで同じ温度条件下でガス を印加せず保存した「非処理区」細胞(Uchida et al., 2011),及び同じロットで保存せずすぐに培養を開始し た「コントロール区」細胞についても上記と同様の条件 下で7日間培養した.なお,それぞれの区分はFigure 1に示した.そして各種ガス印加区の心筋細胞の拍動機 能の正常性と生存率を指標として,以下の方法から評価 した(宮村他,2010;Uchida et al.,2011).

(1) Cell viability

トリパンブルー(SIGMA 社製)を用いて,保存終了 後の細胞を染色した.トリパンブルーにより染まってい ない細胞を生存細胞として,各視野 20 個程度の細胞に ついて血球計算盤を用いて測定し,1試料につき8回の 測定値の平均から生存率を求めた.各実験における複数 回の実験データのうち,最大値と最小値を平均値からの 偏差として表した.

(2) Microscopic observation of cells during cultivation

保存後7日間にわたって培養し、その形態変化の様子 を位相差顕微鏡(OLYMPUS 社製, IX 71)にて観察 した.観察中の温度変化を防ぐため、ステージ上は 37±0.2°Cに調整した.そして、心筋細胞の接着・伸 展・増殖の様子を、コントロール区、非処理区 (Uchida et al., 2011)とガス印加区細胞とで比較した.

(3) Measurements of synchronized beating rate

ガス印加区細胞の拍動機能の回復程度を定量化するた



Figure 1 : Schematic diagram of experimental procedures

Gas	Storage Temperature [°C]							
	9.4 ± 0.1	19.2 ± 0.8	21.9 ± 0.5	28.2 ± 0.1	35.0 ± 0.1			
Xe	2	2	2	2	2			
Ar	2	2	2	2	3			
Kr					2			
He					2			
N_2	1	3	2	2	1			
N/O (5)			2					
Air	1	1	2					
N/O (50)	1	2	2	2	1			
CH_4			2					
C_2H_6			2					
$C_{3}H_{8}$			2					

Table 1 : Experimental conditions and frequencies of experiment

めに,顕微鏡を用いた形態観察時に,複数の細胞による 同期的な拍動(同期拍動)数の日変化を観測した.なお 同期拍動数は,対物レンズ×10を用いて顕微鏡観察を 行い,各区細胞についてそれぞれ任意の4視野でカウン トし平均した.また,各条件において複数回の実験デー タのうち,最大値と最小値を平均値からの偏差として表 した.

3. Results

3.1 Effects of temperature and variety of gases on the morphology of dispersed cell just after the 72hours preservation

各種ガスを 0.5 MPa 印加した状態で,培養液中に分 散させた心筋細胞を 72 時間一定温度で保存を行った. 保存期間中に細胞がどのような変化を生じたかを確認す るため,保存終了時の細胞を培養用ウェルに撒種し,顕微鏡観察を行った.Table2にそれらの結果をまとめた.

撒種直後の顕微鏡観察から,保存期間中の細胞の状態 変化について検討した.Figure 2 には,(a) 非処理区, (b) Xe ガス印加区,および (c) N/O (50) ガス印加区 において,9.4,21.9,および35.0°Cの各温度で72時 間保存したあとの分散状況を示した.Table 2 および Figure 2 (b)より,各ガス印可区とも保存温度が20°C以 下の場合は全て細胞は分散状態を保っていた.先行研究 (Uchida et al.,2011)より,これはコントロール区と同 じ状態であることが示されている.保存温度が21.9°C の場合は,各ガス印加区とも弱く凝集しており,軽いピ ペッティングでかなりの部分が分散した.28°C以上の温 度で保存した場合,細胞同士はピペッティングでは分散 しないほど強く凝集してしまい,培養を開始しても分散 しなかった.すなわち保存温度が20°Cを超えると,保

Storage Temp/°C	Treat gas	Cell condition after storage	Cell viability /%	Observation of cell growth	Observation of cell beating	Observation of beating condition	maximum relative synchronized beating rate/%
control		dispersed	100 ± 4.2	confluent	whole synchronized beat	periodical	100 ± 13.2
	non treat			grow around the cohesion	beating within the cohesion	non periodical (fibrillation, intermittently)	60.1 ± 22.9
35.0	Xe		_				45.7 ± 11.8
	Ar	- strongly aggregated	_				76.1 ± 23.7
	Kr			grow widely around the cohesion			41.2 ± 22.1
	He						35.1 ± 21.4
	N 2		_	grow around the cohesion			65.2 ± 22.7
	N/O (50)	dispersed	59.4 ± 4.5	small adherence, no growth	no beat	none	0
	non treat			grow around the cohesion	beating within the cohesion	non periodical (fibrillation, intermittently)	61.0 ± 21.8
	Xe		_				67.8 ± 22.2
28.2	Ar	strongly aggregated					60.3 ± 22.3
	N_2						55.4 ± 19.0
	N/O (50)	dispersed	63.0 ± 5.0	small adherence, little growth	partly autonomic beating	none	0
	non treat	relatively aggregated	77.4 ± 10.7		beating within the cohesion, then whole synchronized beat	non periodical (elongation of interval)	81.5 ± 25.6
21.9	Xe		72.5 ± 7.3	grow widely around the cohesion			79.5 ± 11.0
	Ar		69.7 ± 10.7				87.2 ± 10.9
	N_2		70.4 ± 6.4				80.4 ± 17.3
	Air		65.0 ± 4.0			non periodical (fibrillation, intermittently)	66.1 ± 16.5
	N/O (50)	dispersed	68.5±7.5	little growth	locally synchronized beat	locally periodical	34.4 ± 41.3
	non treat	dispersed	83.9 ± 12.1	confluent	whole synchronized beat	periodical	90.3 ± 13.0
19.2	Xe		78.1 ± 1.4				84.2 ± 2.2
	Ar		72.7 ± 1.6				90.6 ± 3.1
	N 2		85.0 ± 4.5				80.4 ± 17.3
	N/O (5)		82.7 ± 0.8				60.1
	Air		81.8 ± 0.4	confluent, but slowly			76.4
	N/O (50)		71.5 ± 3.5	widely spread but not confluent	locally synchronized beat	locally periodical	49.2±31.3
	CH_4		75.7 ± 1.7		whole synchronized beat	periodical	84
	C_2H_6		74.6 ± 1.3	confluent			107
	C_3H_8		72.0 ± 2.3				79
9.4 non treat Xe Ar N ₂ Air N/O (50)	non treat	dispersed	88.5 ± 5.5		whole synchronized beat	periodical	101.9 ± 12.4
	Xe		85.3 ± 6.0	confluent			102.7 ± 5.1
	Ar		80.9 ± 2.0				101 ± 5.9
	N_2		90.8±8.8				97.4 ± 2.1
	Air		92.3 ± 3.9				86
		75.4±2.2	widely spread but not confluent	locally synchronized beta	locally periodical	75.9 ± 2.1	

 Table 2 : Summary of observation results

存期間中に細胞の活動を抑制しきれず凝集を始めてしま うことがわかった.凝集の程度が高温ほど強いことか ら,保存温度が高いほど活発に活動していたと推測され る.Table2にも示す通り,これらの結果は何も印加せ ず保存した非処理区の結果(Figure2(a):Uchida et al., 2011)と一致した.これに対し N/O(50)ガス印加区で は,全ての温度範囲で分散状態を保っていた(Figure2 (c)).

保存終了後の細胞の生存率を調べるため,トリパンブ ルー染色による計測を行った.Figure 3 には Xe, Ar, N₂, N/O (50) の各ガス印加区における細胞生存率(生 存細胞数密度/全細胞数密度)の温度依存性を示した. ここで 100%はコントロール区の生存率(Uchida et al., 2011)を示す.またデータの示されていない 28°C以上 の試料については,強固に凝集してしまっていて生存率 の計測が不能であったことを示す.この図からわかると おり,全体的に高温ほど生存率が低下する傾向がみら れ,その傾向は非処理区(Uchida et al., 2011)と有意 な差が見られなかった.N/O (50)ガス印加区について は,温度依存性は定性的に同じだが,生存率自体はいず れの温度でも他のガス印加区及び非処理区よりも低いこ とがわかった.さらに他の条件では凝集してしまった 20°C以上の保存温度条件下でも,細胞が分散しているこ とがわかった.また19.2°C保存区での細胞生存率の O_2 濃度依存性を,N₂,N/O (5),Air,および N/O (50)の 各ガス印加区を比較して調べたところ, O_2 濃度が高く なるにつれて減少していることがわかった(Figure 4).

3.2 Normality of beating properties of preserved cells

保存期間中に受けた細胞機能のダメージを定性的に見 積もるため,保存終了後ウェルに撒種した細胞を生理的 条件下で7日間培養し,細胞の接着・伸長及び拍動状況 の変化を観察した.細胞の接着・伸長状況については,



Figure 2 : Microscopic observations of dispersed cells just after the 72-hours preservation at 9.4° C (left column), 21.9°C (middle column), and 35.0°C (right column), respectively, under (a) non-gas adding, (b) 0.5MPa Xe adding, and (c) 0.5MPa N/O (50) adding samples. Each scale bar indicates 200μ m.



Figure 3 : Viability of preserved cells under non-gas adding (thick solid line with circles), 0.5 MPa Xe adding (thick dashed line with solid squares), 0.5 MPa Ar adding (thin dashed line with solid triangles), 0.5 MPa N₂ adding (thin dotted line with solid squares) and 0.5 MPa N/O (50) adding (thin dashed line with solid diamonds). Each error bar indicates the standard deviation of 8 measurements in each sample. The preservation samples at 28.2° C and 35.0° C were impossible to measure the viability due to the tight aggregation.



Oxygen content /%

Figure 4 : Viability of preserved cells at 19.2°C under 0.5 MPa pressurized-gases containing various O_2 concentrations

Figure 5 に (a) 非処理区, (b) Xe ガス印加区, および (c) N/O (50) ガス印加区において, 培養4日目の顕微鏡観察像を保存温度の違いとともに示した.

Table 2 および Figure 5(b)より,Xe ガス印加区で は,撒種時分散状態だった 20°C以下の保存温度条件で の細胞は,撒種後すぐに接着・伸長をはじめ自律拍動を 開始した.培養日数が経過するとともに細胞によるウェ ル底面占有面積は増加し,拍動は隣接する心筋細胞と同 期し始めた.培養開始後 2 ~ 3 日でほぼ全面が細胞に覆 い尽くされ(コンフルエント状態),拍動も観察範囲全 域で同期するようになった.先行研究(Uchida et al., 2011)より,これはコントロール区と同じ状態であるこ とが示されている.温度21.9°Cの条件下で保存された 細胞も,ほぼ20°C以下の条件で保存されたものと同様 であったが、28°C以上の条件で保存された武料では、凝 集した細胞塊そのものが接着し、その周囲から少し細胞 が伸長する様子が観測された.また培養日数が経過する と、細胞塊の一部が同期拍動する塊も観測された.しか しその拍動は塊間には伝搬せず、塊ごと独立に拍動して いた.このことから、保存期間中に凝集した細胞の多く



Figure 5 : Microscopic observations of preserved cells after 4-days cultivation under physiological conditions (37°C, 100% humidity and 0.1 MPa air including 5% CO₂). Each sample is the same as shown in Figure 2. Each scale bar indicates 200 μ m.

は死滅していると思われたのだが、少なくとも細胞塊中 の細胞も一部生存していたことがわかった.しかしその 細胞の伸長・拍動の様子は、通常の分散細胞とは異なる ものであり、心筋細胞の機能としてはかなり劣化してい ると考えられた.Table 2 にも示す通り、これらの結果 は O_2 含有ガス印加区以外の他のガス印加区とも定性的 に一致しており、何も印加せず保存した非処理区の結果 (Figure 5(a): Uchida et al., 2011)とも一致した.

これに対し N/O (50) ガス印加区においては,培養日 数が経過しても伸長する細胞は少なく,培養液の交換に 伴って細胞数が減少している様子が観測された (Figure 5(c)). 拍動も自律拍動する細胞は観測範囲内でい くつか観測されたが,他のガス印加区及び非処理区の試 料と比べて明らかに少ない数であった.そして 28°C以 上の保存温度では,細胞塊の中で拍動する様子は見られ たが,培養7日までの間に観察範囲全体で同期する拍動 は見られなかった.

3.3 Measurements of synchronized beating rates

保存細胞の拍動機能への影響をより定量的に見積もる ため,強く凝集した試料を除き,培養開始から7日目ま でに観測された同期拍動数の変化を比較した.各試料の 同じロットにおけるコントロール区の最大同期拍動数で 規格化して示すと(Figure 6), N/O (50) ガス印加区を 除く全てのガス印加区において,培養開始0~1日目に 同期拍動が観測され,コンフルエント状態になるまで同 期拍動数は増加した.これらの試料は,コンフルエント になった頃に最大同期拍動数を記録した後,徐々に減少 していく様子が観測された.この日変化は,先行研究 (Uchida et al., 2011)で得られた非処理区の結果とほぼ 同様な結果であり,コントロール区とも保存期間をシフ トすると一致することがわかる.すなわち Xe, Ar,



Figure 6 : Daily variation of the synchronized beating rate of preserved cells (normalized by the maximum rate in the control sample observed in 3-days cultivation, shown in solid yellow line). The cultivation of preserved cells started on day 3 but the synchronized beating was observed after one day in culture.

N₂ ガス 0.5 MPa 印加条件下で保存温度 20℃以下で 72 時間保存した細胞の拍動機能は,充分保存されていたこ とが示された.これに対し同じガス印加区でも保存温度 が 28℃以上であった場合は,凝集によりコントロール 区とは異なった成長をして,拍動機能も劣化していた.

N/O (50) ガス印加区の試料については,保存温度が 高いほど拍動開始日が遅れ,最大拍動数は低下し,最大 拍動数となる日も遅れるなど拍動機能が著しく劣化して いたことが明らかになった.19.2°Cにて保存した N₂, N/O (5), Air,および N/O (50)の各ガス印加区試料に ついて,同じロットでのコントロール区で得られた最大 同期拍動数の値で規格化した最大同期拍動数の割合(同 期拍動回復率)を O_2 濃度の違いにより比較したとこ ろ, O_2 濃度が高いほど同期拍動回復率が低下すること がわかった(Figure 7).

4. Discussion

Xe, Ar, N₂ ガス 0.5 MPa 印加条件下で 72 時間の 心筋細胞保存を行ったが, 20°C以下の温度条件下では分 散状態を保ち,保存後の生存率は 70%以上,成長状況 もコントロール区,及び非処理区と遜色なかった. 21.9°Cでは弱い凝集が見られたが,それ以上の温度では 強い凝集がみられ,その後の培養時もコントロール区と 同じような成長は見られなかった.これらの結果は,非 処理区の温度依存性とほぼ同じであった.すなわち Xe, Ar, N₂ を 0.5 MPa 印加して 72 時間保存しても, 保存温度が 20°C以上であればガスを印加しなかった場 合と同様に,細胞同士の凝集を防ぐことができなかっ た.このことは,他の不活性ガスや炭化水素ガスを用い ても同様であった.従って,生花や野菜でみられた生命 活動を抑制する効果は動物分散細胞に対しては見られ ず,クラスレート生成ガス・非生成ガスを問わずガスを 印加しても心筋細胞の保存温度の上限値を引き上げるこ とができなかった.

一方 N/O (50) ガス印加条件下で保存した細胞は,他 のガス印加区とは異なる結果が得られた.元々O₂濃度 をあげたガスの印加試験は、保存期間中に細胞が酸素欠 乏になることを危惧して実施したものであった. その結 果,保存期間中の分散状態は保存温度 35℃まで保たれ ており,保存期間終了後の生存率もO2濃度の影響は小 さかった.このため本研究の目的である保存温度の引き 上げに最も適した条件であると期待された.しかし保存 終了後の培養試験において、O2含有ガス印加区の試料 は全て接着,伸長状態が他と比べて劣化していた.培養 日数が経過すると細胞数が徐々に減少していったことか ら, O₂含有ガス印加区では細胞の接着, 伸長機能は回 復できなかったことが示唆される. 当然拍動状態も劣化 していた.19.2°Cで保存したO。含有ガス印加試験にお いて,同期拍動回復率がO2濃度の高い試料ほど低下し ていたことから,細胞の接着,伸長機能を抑制していた のはO2である可能性が高い.従ってO2含有ガス印加 条件は,保存期間中の細胞同士の接着を抑制したが,ガ スを除去したあとも細胞の接着機能に影響を残し、その 後の培養試験において著しい細胞品質の低下を生じるこ とがわかった.これらの影響も保存温度が低下すると 徐々に弱まることから,保存期間中の温度が細胞活動を 抑制する最も大きい要素の一つであることが確認され た.同時に O₂ 含有ガスの効果が細胞保存の品質変化に 現れたことから、Xeガスをはじめとする他のガスが保 存期間中の細胞に大きな影響を及ぼしていなかったこと は, 溶存したガスが細胞に到達していなかったわけでは



Figure 7 : The recovery rate of maximum synchronized betating rate of preserved cells at 19.2° C under 0.5 MPa pressurized-gases containing various O₂ concentrations during 7-days cultivation (normalized by the maximum rate in the control sample).

ないことが裏付けられた.そして,保存期間中の細胞凝 集にガス種依存性がほとんどなく,温度条件にのみ依存 していることが明らかになった.

O₂ 含有ガスが細胞にどのような影響を及ぼしていた かについては,現時点では明らかではない.しかし上記 のような実験結果の考察から,培養液中に高濃度に溶存 した O₂ が細胞に作用し,細胞の接着機能を長期間抑制 する作用があると考えられる.

5. Conclusions

心筋細胞の常温保存条件を緩和する技術の開発のた め、麻酔ガスである Xe を始め不活性ガスの Ar, Kr, He,炭化水素ガスの CH₄, C₂H₆, C₃H₈,空気成分の N₂, 圧縮空気,及び O₂ 濃度を 5%,50%にした模擬空 気を 0.5 MPa 印加した条件で保存実験を行った.9~ 35°Cの温度条件で各ガス印加区で保存された心筋細胞に ついて,72 時間保存後の細胞の状態の観察,トリパン ブルーによる細胞生存率を調べた.また各試料とも生理 的条件下で7 日間培養を行い,心筋細胞の機能の通常性 を伸長観察と同期拍動回数の測定などから評価した.

その結果, Xe, Ar, N₂ ガスについては, ガスを印 加せず保存した非処理区とほとんど同じ結果になり, ガ ス印加が保存温度の引き上げに効果がないことが明らか になった.その他のガスについても, 19.2°C, 35.0°Cで 実験を行い, 結果が定性的に一致することを確かめた. これに対し, O₂ 含有ガス印加区では保存期間中の細胞 凝集を室温以上の温度まで抑制することがわかったが, その後の培養試験において細胞の接着, 伸長機能に劣化 がみられ, 保存細胞の品質は低下した.

以上の結果から,ガス印加により細胞の保存条件は変 化し得ることが示唆されたが,本実験の条件の範囲内で は単に麻酔ガスによって保存温度を引き上げることがで きないことがわかった.

Acknowledgments

本研究の一部は,(独)科学技術振興機構(JST)地域 イノベーション創出総合支援事業重点地域研究開発支援 プログラムシーズ発掘試験「ガス印加法による細胞の常 温保存技術の開発(No.01-099)」の援助を受けて行わ れた.本研究で用いた心筋細胞試料は,㈱プライマリー セル社より提供していただいた.

References

安藤寛子,鈴木徹,川越義則,牧野義雄,大下誠一:キセノ ンガスを用いた野菜組織内の水の構造化とクラスレート水 和物の形成-NMR によるプロトン緩和時間の観察-, 日本冷凍空調学会論文集,**25**(4),299 (2008).

- 橋本篤,大下誠一:水の構造化を利用した野菜の貯蔵,*農業機械学会誌*,58,38-41 (1996).
- Kakinuma, Y., Miyauchi, T., Yuki, K., Murakoshi, N., Goto, K. and Yamaguchi, I.: Mitochondrial Dysfunction of Cardiomyocytes Causing Impairment of Cellular Energy Metabolism Induces Apoptosis, and Concomitant Increase in Cardiac Endothelin-1 Expression, *Journal of Cardiovascular Pharmacology*, **36**, S201–S204 (2000).
- 松島卯月,大下誠一,中西友子,松林政仁,瀬尾康久,川越 義則:カーネーション切り花内の水に対する無極性ガスの 影響, 農業機械学会誌, 62(5), 70-78 (2000a).
- 松島卯月,大下誠一,瀬尾康久,川越義則:無極性ガスを利 用したカーネーション切り花の保存,*農業機械学会誌*, 62(6),73-80 (2000b).
- 宮村謙一郎, 永山昌史, 郷原一寿, 平敏夫, 清水恭子, 酒井 雅人, 内田努: ラット心筋細胞の凍結保存におけるジメチ ルスルホキシドの有効性評価, <u>低温生物工学会誌</u> (*Cryobiology and Cryotechnlogy*), **56**(2), 111-117 (2010).
- Oshita, S., Seo, Y., Kawagoe, Y., Koreeda, K., and Nakamura, K.: Extension of vase-life of cut carnations by structured water, *Acta Horticulturae*, **440**, 657–662 (1996).
- 大下誠一,橋本篤,瀬尾康久:水の構造化による農作物の貯 蔵(第1報), *農業機械学会誌*, 58, 31-38 (1996).
- 大下誠一, ラハマン, M.A., 川越義則, 瀬尾康久, 橋本 篤:水の構造化による農作物の貯蔵(第2報), *農業機械 学会誌*, **59**, 29-35 (1997).
- Oshita, S., Seo, Y. and Kawagoe, Y.: Relaxation time of protons in intracellular water of broccoli, *The Electronic Journal of CIGR*, **1**, October (1999).
- Simpson, P., McGrath, A. and Savion, S.: Myocyte Hypertrophy in Neonatal Rat Heart Cultures and Its Regulation by Serum and by Catecholamines, *Circulation Research*, **51**, 787-801 (1982).
- Smith, A.: problems in the resuscitation of mammals from body temperatures below 0°C, *Proceedings of the Royal Socity of London*, Series B, Biological Sciences, 147, 533-544 (1957).
- Tamamori-Adachi, M., Ito, H., Sumrejkanchanakij, P., Adachi, S., Hiroe, M., Shimizu M., Kawauchi J., Sunamori M., Marumo F., Kitajima S., and Ikeda M.: Critical Role of Cyclin D1 Nuclear Import in Cardiomyocyte Proliferations, *Circulation Research*, 92, e12– e19 (2003).
- Uchida, T., Nagayama, M., Taira, T., Shimizu, K. and Sakai, M., Gohara, K.: Optimal temperature range for low-temperature preservation of dissociated neonatal rat cardiomyocytes, *Cryobiology*, **63** (3), 279–284 (2011).
- Yokomuro, H., Mickle, A. G. D., Weisel, R. and Li, R.: Optimal conditions for heart cell cryopreservation for transplantation, *Molecular and Cellular Biochemistry*, 242, 109–114 (2003).

Dependence of freeze-concentration inhibition on antifreeze protein

Takuya Yamanouchi¹, Nang Xiao¹, Yuichi Hanada¹, Tatsuro Kamijima², Mami Sakashita², Yoshiyuki Nishimiya², Ai Miura², Hidemasa Kondo^{1,2}, Sakae Tsuda^{1,2†}

2012年9月14日受付, 2012年11月30日受理

The ability for freeze-concentration inhibition (FCI) was examined for type I antifreeze protein (AFPI) and antifreeze glycoprotein (AFGP) through the observation of the condensation of red-colored ink in an ice block for various concentrations of the proteins. The thermal hysteresis (TH), which indicates the ice growth inhibition strength, and ice-shaping ability were also examined for the two samples. The amount of AFPI and AFGP necessary for FCI was determined to be 0.1 mg/ml and 0.25 mg/ml, respectively. There was no significant difference in the TH of both samples. AFPI and AFGP shaped the ice crystals into hexagonal trapezohedrons and hexagonal bipyramids, respectively, where the former was thinner than the latter. These results suggest that a principle determinant of FCI is the ice-shaping ability, rather than the ice growth inhibition of AFPs.

Key words : antifreeze protein, freeze-concentration inhibition, ice-shaping, thermal hysteresis.

In general, numerous ice nuclei are created in undercooled water at the moment it is frozen (Akyurt et al. 2002). The ice nuclei bind to one another with time to form a multicrystalline state, which is known as the ice recrystallization process. During this process, most substances other than water are excluded from the ice phase because they cannot be incorporated into the network of water molecules forming the ice lattice (Viskanta et al. 1997). The excluded substances are inevitably concentrated into an unfrozen portion, a process that is referred to as the "freezeconcentration phenomenon," and has been one of the problems associated with the quality preservation of any water-containing material such as tissues, foods, and drags (Pegg, 2007). Antifreeze protein (AFP) inhibits the ice recrystallization (Griffith and Ewart, 1995); however, its effect on the freeze concentration

¹ Graduate School of Life Science, Hokkaido University, Sapporo 060-0810, Japan is not well understood.

AFP was first discovered as a fish serum protein in 1969 and has been identified from various species of fish, insects, plants, and fungi, which live in ice-laden environments (Fletcher et al. 2001). AFP has been thought to facilitate their cold survival by eliminating the growth of the ice created in their tissues. AFPs have the common function of specifically binding onto a set of water molecules in an ice crystal in order to inhibit its growth (Graether and Sykes, 2004). The typical method for evaluating the strength of ice growth inhibition of an AFP is to measure the nonequilibrium freezing temperature and melting temperature ($T_{\rm f}$ and $T_{\rm m}$, respectively) of an ice crystal prepared in the AFP solution. The difference between the two temperatures is called thermal hysteresis (TH) (Yeh and Feeney, 1996). AFP also shows ice-shaping

[†] Correspondence should be addressed to Sakae Tsuda. Bioproduction Research Institute, National Institute of Advanced Industrial Science and Technology (AIST), Sapporo 062-8517, Japan. Tel. 011-857-8912, Fax. 011-857-8983, E-mail: s.tsuda@aist.go.jp

² Bioproduction Research Institute, National Institute of Advanced Industrial Science and Technology (AIST), Sapporo 062-8517, Japan

ability; it modifies the ice crystal into a unique shape such as hexagonal bipyramid through adsorption onto the surface of the crystal in the TH temperature range.

Freeze concentration is a macroscopic phenomenon that can be observed in a cup or an industrial tank and thus, an industrial amount of fish AFP is desired for application in this field. However, until recently, it has only been obtained in milligram quantities as natural fish AFP; its scarcity was due to the need to purify the protein from the blood serum of arctic and antarctic fish. A newly developed technique for purifying grams to kilogram quantities of fish AFP, which is based on the discovery that many midlatitude fish also contain AFP in their muscles (Nishimiya et al. 2008), has overcome this problem. At present, the commercial manufacturing of AFP has led to its wide availability and enabled the analysis of its functions on a larger scale.

Here we report on the ability of freezeconcentration inhibition (FCI) for two species of AFP purified from fish muscle, type I AFP (AFPI) and antifreeze glycoprotein (AFGP). A simple device was prepared that allows the observation of the condensation of a red-colored ink in an ice plate in order to evaluate the FCI ability of the samples. Notably, AFPI exhibited FCI at a much lower concentration than AFGP. On the basis of the additional measurements of the ice-shaping ability and TH values, a mechanism for FCI by AFP is proposed.

Materials and methods

The AFPI and AFGP samples came from the Japanese fish Pleuronectiformes and Gadiformes, respectively, and were provided by Nichirei Foods Inc. (9-Shinminato, Mihama-ku, Chiba-shi, Chiba 261-8545, Japan) and used without further purification. These two AFPs were obtained from the muscle homogenate, not the blood serum, of these fish. The measurement of the FCI ability of the AFPs is described in the Results section. The TH was determined with the accuracy of 0.01°C as described by Takamichi et al. (2007) using an inhouse system with a Leica DMLB 100 photomicroscope (Leica Microsystems AG, Wetzlar, Germany) equipped with a Linkam LK600 temperature controller (Linkam, Surrey, UK). Briefly, a solution of AFP was momentarily frozen by lowering its temperature to -25° C, and then warmed up close to 0 °C on the sample stage in order to create a single ice crystal in the solution. The solution was then cooled down or warmed up slightly, which enabled the observation of the morphological changes of the single crystal (i.e., the ice-shaping ability of AFP) and also the determination of its growth initiation and/or melting temperatures. The two temperatures are defined as the nonequilibrium $T_{\rm f}$ and $T_{\rm m}$, respectively, thus giving the TH value (i.e., TH = $|T_{\rm f} - T_{\rm m}|$). All photomicroscope images and movies were recorded using a color video 3CCD camera (Sony, Tokyo, Japan).

Results

A preliminary test for FCI was initially performed using 1 mg/ml solution each of AFPI and AFGP (Fig. 1). Each AFP sample was dissolved in 60 ml of Milli Q water with 20 μ l of red-colored ink (Pilot Co. Ltd) in a vessel, which was then stored overnight in a home freezer where the temperature was set to -18°C. As shown in Fig. 1a-c, a condensed ink portion was created in the frozen vessel when the solution contained no protein, suggesting that freeze concentration occurred in the vessel. An observed slight increase in the water volume was attributed to the fact that water uniquely becomes less dense when it freezes. In contrast, the inks were dispersed throughout the entire vessel in the presence of AFPI (Fig. 1d-f), leading to the creation of uniformly red-colored ice in the vessel. Such a colored ice was similarly created when the AFGP sample was used (data not shown). These results indicated that AFPI and AFGP are capable of performing FCI against the red ink in the vessel.

To examine the FCI ability of AFPs more closely, an acrylic box $(1 \times 8 \times 10 \text{ cm})$ containing 60 ml of the MilliQ water and 20 μ l of red ink (Fig. 2) was used. The box was placed inside a heat insulating material, and then stored in the same freezer to induce onedirectional freezing from the top to bottom direction. As expected, a condensed red-ink portion was created in the absence of the AFPs (Fig. 2b), whereas the addition of the proteins prevented the condensation of the inks as a consequence of the FCI ability of AFPs (Fig. 2d). The photographs of the ice block at various protein concentrations were taken, and the brightness of the ice from the top to bottom was traced using the "Image J" software (http://rsbweb.nih.gov/ij/). The



Figure 1 : Freeze concentration observed for an ordinary solution (a-c) and freezeconcentration inhibition (FCI) observed for the solutions containing AFPI (d-f). (a) Numerous seed ice crystals are created in the water solution at the moment it is frozen. The freezing is initiated near the top of the solution in this case. (b) Ice crystals bind to one another with time to form a multicrystalline state, which excludes the ink particles and concentrates them into an unfrozen portion of the vessel. (c) A snapshot of the entirely frozen ink solution without an AFP. The ink particles are trapped/ concentrated in the middle of the ice block. (d) The seed ice crystals are created near the top of the water, while their growth and mutual binding are inhibited by AFPI. (e) The ice crystals assemble to form a slurry state, which cannot exclude the ink particles, leading to the formation of a frozen mixture of the ink and ice crystals. (f) A snapshot of the entirely frozen ink solution containing AFPI showing a uniformly colored ice block.

tracing was performed for five different positions of the ice, and the averaged value (i.e., condensation) was plotted as a function of the distance between the two ice termini. The curved profile with a peak illustrated in Fig. 2c indicates that freeze concentration occurred at the peak position, whereas the flat profile without a peak shown in Fig. 2d indicates the disappearance of condensation as a consequence of the FCI ability of the AFP.

The condensation of the red-colored ink in the ice block at various concentrations of AFPI and AFGP are plotted in Figs. 2f and 2g, respectively. For both AFP samples, the height of the condensation peak was lowered and eventually became flat with increasing protein concentration. These observations indicate that both AFPI and AFGP possess an ability to cause FCI. The amount of AFPI and AFGP samples necessary for the FCI ability was determined to be 0.1 mg/ ml and 0.25 mg/ml, respectively.

The TH value was further examined for the AFPI and AFGP samples as a function of the protein concentration between 0 and 1.2 mg/ml which was

found to be the range suitable for the FCI observation. Significantly, nearly identical profiles for the TH with a maximum TH value of approximately 0.1 °C were obtained for both protein samples (Fig. 3a). Note that 1 °C of TH was typically obtained for purified samples of AFPI and AFGP (Fletcher et al. 2001). These results indicate that there is no significant difference in their strength for ice growth inhibition.

The ice-shaping ability was photomicroscopically observed during the TH measurement. Figures 3b and 3c show the ice crystals created for approximately 0.6 mg/ml of the AFP1 and AFGP samples, respectively. As shown in the figure, a hexagonal trapezohedron ice crystal with two flat basal planes was observed for the AFPI solution (Fig. 3b). In contrast, a hexagonal ice crystal plate with two basal planes was observed for the AFGP solution (Fig. 3c). Importantly, the radius of the ice crystal observed for AFPI (Fig. 3b) was narrower than that for AFGP (Fig. 3c).



Figure 2 : Measurement of the FCI ability of AFPs. (a) An acrylic box $(1 \times 8 \times 10 \text{ cm})$ containing the sample solution placed in a heat insulating material. One-directional freezing progresses from the opened top to bottom. (b) An ice block showing the condensed ink portion after overnight freezing of the sample without AFP. (c) The ink condensation plot created by a brightness tracing for (b). (d) An ice block showing a dispersion of the ink in the frozen sample containing AFPI. (e) The ink condensation plot created by a brightness tracing for (d). (f) Ink condensation profiles examined for 0–0.40 mg/ml solutions of AFPI. (g) Ink condensation profiles examined for 0–0.80 mg/ml solutions of AFGP.

Discussion

The ability for FCI of a red-colored ink was examined for the two AFP samples, AFPI and AFGP, which were mass purified from the muscle homogenate of midlatitude fish. The particles of red-colored ink were concentrated in a vessel during freezing with the AFPs, whereas this concentration was prevented by the addition of the AFPs. A proposed mechanism for each result is illustrated in Fig. 1. When a water solution without AFP was frozen at -18° C, the seed ice crystals, or ice nuclei, underwent recrystallization to form a multicrystalline state. The water freezing progressed from the outer surface to the inner center of the vessel (Fig. 1a). The red ink, whose molecular structure is different from that of water, was barely incorporated into the ice lattice, and thus could not participate in the ice recrystallization process. As a result, the ink was excluded from the ice phase and concentrated in the unfrozen center portion of the vessel (Fig. 1b-c).

When AFPI was dissolved in the water at a

concentration of 1 mg/ml, it accumulated on the surface of the seed ice crystals. Because the surfaces of the ice crystals were covered with AFPs, they could barely bind to one another. Consequently, the seed ice crystals assembled to form a slurry state but not an ice block (Fig. 1d-e). Note that the ice crystal slurry became solid/immobile as the temperature decreased. Each ice crystal was assumed to form a bipyramid, or a derivative morphology, according to the type of accumulated AFP and several experimental parameters such as pH, viscosity, ionic strength, and pressure (Griffith and Ewart, 1995). The ice slurry could not exert the power to exclude the ink particles and thus, a frozen ice-ink mixture was formed in the vessel (Fig. 1e-f).

To examine the FCI ability of the AFPs more closely, a simple device was prepared to monitor the freeze concentration during one-directional freezing (Fig. 2). It provided two different ink condensation profiles along with the freezing direction. One profile contained a peak corresponding to the condensed ink portion arising from the freeze concentration (Fig. 2c), whereas the other showed a flat profile without a peak, implying that the AFPs exerted an FCI ability (Fig. 2e). Significantly, only 0.1 mg/ml of AFPI was sufficient; however, 0.25 mg/ml of AFGP was necessary to inhibit the freeze concentration. These results imply that the FCI ability of AFPI is 2.5-fold higher than that of AFGP. It can be assumed that this difference is due to a difference in the strength of the ice growth inhibition, or the TH activity, of AFPI and AFGP. However, this idea lacks support because both AFPs exhibited nearly identical TH values (Fig. 3a).

AFPI shaped the ice crystal into a hexagonal trapezohedron (Fig. 3b); whereas AFGP created a hexagonal bipyramid, although the two tip portions were truncated and became flat hexagonal surfaces (Fig. 3c). These observations are consistent with previous observations (Evans and Fletcher, 2001; Hachisu et al. 2009). Interestingly, the radius (r) of the bipyramidal crystal of Fig. 3b was shorter than that of Fig. 3c; the former was thinner than the latter. It has been shown that the spaces between growthterminated ice crystals formed in the presence of an AFP can trap a solute such as NaCl (Lin et al. 1976). On the basis of these observations, it was hypothesized that a larger space was created between the grain boundaries of the thinner ice crystals (Fig. 4a) compared with the thicker ones (Fig. 4b). That is, AFPI was assumed to create a slurry composed of thinner ice

crystals in order to provide a larger space for the ink particles, leading to easier formation of the ice-ink mixture in the frozen state. However, the thicker ice crystals created by AFGP allow less space between the grain boundaries, and freeze concentration is barely prevented. The radius of the ice bipyramid presumably decreases with increasing AFP concentration. Hence, we assumed that the effective AFPI exhibited FCI with a quantity less than that required for AFGP. While more experiments are necessary to confirm this conclusion, our assumption is consistent with the previous indications for the AFPs discovered from plants. They have commonly exhibited a very small TH value, yet effectively caused recrystallization inhibition with small ice crystals (Griffith and Evart, 1995).

Currently, freeze-concentration inhibition (FCI) of water-containing material is achieved using cryotechniques such as -80° C deep freezing or the use of -196° C liquid nitrogen because quick/flash freezing utilizing such a low temperature prevents freeze concentration. However, this technique requires high energy consumption. AFP does not use high energy to perform FCI; therefore, it is an ideal substance for the quality preservation of many water-containing materials.

In summary, the FCI ability, TH, and ice-shaping behavior of AFPI and AFGP were examined. AFPI exhibited FCI with a quantity less than AFGP. The



Figure 3: Measurement of the TH and ice-shaping ability of the AFPs. (a) TH values plotted as a function of the concentration of AFPI (triangles) and AFGP (circles). For clarity, a smooth curve is drawn to fit each set of data. (b) Photomicrograph and illustration of an ice crystal created in a 0.6 mg/ml AFPI solution, showing a hexagonal trapezohedron shaped crystal with two flat basal planes. (c) Photomicrograph and illustration of an ice crystal created in a 0.6 mg/ml AFGP solution. This hexagonal plate is one of the derivatives of the hexagonal bipyramid as described in Griffith & Ewart (1995). The radius (r) in (b) is shorter than that in (c).



Figure 4 : A proposed mechanism for the FCI ability of the AFPs. (a) Illustration showing the spaces created between the growth-terminated ice crystals formed in the presence of AFPI, which should be capable of trapping the solute. AFPI creates thin ice crystals; thus, a smaller amount might be able to exhibit the FCI ability. (b) Illustration showing the creation of smaller spaces between the thick ice crystals, which tends to cause freeze concentration against the solute. Therefore, a larger amount of AFGP might be required to make the ice crystals smaller to provide the FCI ability.

two proteins showed no significant difference in the strength of ice growth inhibition; however, the ice crystal shaped with AFPI was thinner than that with AFGP. These results suggest that the FCI efficiency is determined by the ice-shaping ability of AFPs, rather than their ice growth inhibition.

Acknowledgments

We thank Takeshi Koizumi and Satoshi Inoue of Nichirei Foods Inc. for providing the samples of fish AFPI-III and AFGP. This work was supported by a Grant-in-Aid for scientific research from the Japan Society for the Promotion of Science (JSPS) (No. 23310171) and from the Japan Bio-oriented Technology Research Advancement Institution (BRAIN).

References

- Akyurt, M., Zaki, G. and Habeebullah, B. (2002) Freezing phenomena in ice-water systems. *Energ. Convers. Manage.* **43**, 1773–1789.
- Evans, R. P. & Fletcher, G. L. (2001) Isolation and characterization of type I antifreeze proteins from Atlantic snailfish (Liparis atlanticus) and dusky snailfish (Liparis gibbus). *Biochim. Biopys. Acta*, **1547**, 235–244.

Fletcher G. L., Hew, C. L., and Davies, P. L. (2001) Annu.

Rev. Physiol. 63, 359-390.

- Graether S. P. & Sykes, B. D. (2004) Cold survival in freeze-intolerant insects: The structure and function of β -helical antifreeze proteins. *Eur. J. Biochem.* **271**, 3285–3296.
- Griffith M. & Ewart, K. V. (1995) Antifreeze proteins and their potential use in frozen foods. *Biotechnol. Advances*, 13, 375–402.
- Hachisu, M., Hinou, H., Takamichi, M., Tsuda, S., Koshida, S. & Nishimura S.-I. (2009) One-pot synthesis of cyclic antifreeze glycopeptides. *Chem. Commun.* 13, 1641–1643.
- Nishimiya, Y., Mie, Y., Hirano, Y., Kondo, H., Miura, A., & Tsuda, S. (2008) Mass preparation and technological development of an antifreeze protein. *Synthesiology* **1**, 7-14.
- Pegg, D. E. (2007) Principles of cryopreservation, *Methods Mol. Biol.* 368, 39–57.
- Lin, Y., Raymond, A., Duman, J. G., and DeVries, A. L. (1976) *Cryobiology* **13**, 334-340.
- Takamichi, M., Nishimiya, Y., Miura, A., & Tsuda, S. (2007) Effect of annealing time of an ice crystal on the activity of type III antifreeze protein. *FEBS. J.*, 274, 6469–6476.
- Viskanta, R., Bianchi, M. V. A., Critser, J. K., and Gao, D. (1997) Soldification processes of solutions. *Cryobiology* **34**, 348–362.
- Yeh, Y. & Feeney. R. E. (1997) Antifreeze proteins: Structures and mechanism of function. *Chemical Reviews*, 96, 601–617.

植物組織における ガスハイドレートの形成とその影響

則竹(安藤)寛子¹⁾, 鈴木 徹¹⁾, 大下 誠一²⁾

2012年9月16日受付, 2012年12月17日受理

植物組織におけるガスハイドレート形成プロセスの検討を目的に,非破壊測定技術である NMR 法にてタマネギ組織内における Xe ハイドレート形成・成長の様子を観察した.ソリッドエコー法に よるガスハイドレート形成割合および MRI 画像観察における組織内部構造の変化を観察した.その 結果,ソリッドエコー法を用いることでタマネギ組織の内部に Xe が浸透・溶解した後,試料管に衝 撃を与えると組織表面に Xe ハイドレートが形成することを確認した.形成した Xe ハイドレート は,時間経過に伴いその量を増加させ,組織表面のみならず組織の内部においても結晶を形成・成長 させることを確認した.併せて行った拡散係数の測定より観察される細胞膜の水透過性の変化の観察 結果より,Xe ハイドレート形成・成長によって細胞膜はダメージを受け,その解離後,細胞膜の水 透過性は著しく増大することを示した.

Gas hydrate formation and effect for plant tissue.

Hiroko Noritake-Ando¹, Toru Suzuki¹, Seiichi Oshita²

For understanding the process of gas hydrate formation in plant tissue, onion tissue structure before and after Xe hydrate formation was investigated by using nuclear magnetic resonance (NMR) spectroscopy, a non-destructive technique. The gas hydrate formation in the tissue was observed quantitatively by using solid echo method. And the cell structure change in the tissue depending on Xe hydrate formation was observed by using MRI measurement. As the results, it was confirmed that change of the tissue structure with Xe penetration and Xe hydrate formation was observed clearly by using MRI measurement. While Xe hydrate was increase in the onion tissue quantitatively, the growth of Xe hydrate was observed not only on the surface but also in the inter tissue. Furthermore, depending on the hydrate formation in the tissue, cell membrane in the tissue was caused damage significantly after Xe hydrate decomposition through observation of water diffusivity. It was suggested that the property of cell membrane changed significantly by formation of Xe hydrate in the tissue.

1. はじめに

ガスハイドレートの形成メカニズムは,氷の形成や疎 水性ガスの溶解に関する事項,またこれらの現象のコン ピューターシミュレーションの結果より,様々に検討さ れている (Salon and Koh, 2007). 生物組織においても 麻酔のメカニズムに対する興味から,ガスハイドレート の形成に関する研究は行われてきた. 生物とガスハイドレートに関する研究は、1961年、 Pauling がサイエンス誌でガスハイドレート微細結晶と 動物の全身麻酔の関係を示唆した事に始まる.彼は、麻 酔性のガスとして利用されている Xe などが水に溶解す ると形成するガスハイドレートに着目した.そして、ガ スハイドレートの微細結晶がタンパク質等の結合部位や 脳内の水溶液中のイオンに結合することで、それらが発 信する電気信号のネットワークに制限を与えると予測し た(Pauling, 1961).また同年、Miller(1961)も全身 麻酔メカニズムとして、Xe などの麻酔性ガス分子の周 りで高度に構造化した水が形成し、脳の活動電位や細胞 膜の流動性の低下を起すことを示唆した.その後、 ¹²⁹Xe 核の NMR による可視化技術によって(Raftery, 2006)、Xe とタンパク質等の生体物質との結合に関す る報告はなされたものの(Cherubini and Bifone,

¹⁾ 東京海洋大学海洋科学部食品生産学科

²⁾ 東京大学大学院農学生命科学研究科

¹ Department of Food Science and Technology, Tokyo University of Marine Science and Technology, Tokyo, Japan

² Graduate School of Agricultural and Life Sciences, The University of Tokyo, Tokyo, Japan

2003), 生体におけるガスハイドレートやいわゆる構造 化した水の形成を示すには至っていない.また食品科学 分野において,長期保存法への利用の観点から食品素材 を用いたハイドレートの形成に関する検討が行われた (Huang et al., 1965).ニンジン組織・牛筋肉組織の細 胞構造を光学顕微鏡を用いて観察することで,ガスハイ ドレートの形成過程の観察が試みられた.しかし,機械 的な問題から組織を非破壊の状態で取り扱うことができ ず,麻酔メカニズムに関する研究同様,食品組織におい てもガスハイドレートの形成を直接証明するには至らな かった.

そこで我々は, 生物組織におけるガスハイドレートの 形成を実験的に確認することを目的に,取り扱いが容易 なタマネギ組織を用いてガスハイドレートの形成を観察 してきた.その結果、粉末X線回析測定より、5℃、 0.8 MPaのXe分圧内にてタマネギ組織にXeハイド レートが形成することを確認した.また NMR 緩和時 間を観察することで、タマネギ組織における Xe ハイド レートの形成を, 組織を非破壊の状態において捉えるこ とができることを確認した (Ando et al, 2009). これら の結果を踏まえて、本研究では、タマネギ組織中におけ るガスハイドレート形成プロセスを観察することを目的 に,Xeハイドレート形成・成長に伴う量的な変化をソ リッドエコー法による固体割合の測定を用いて検討し た.併せて、組織内部の変化を観察するため、MRI 測 定を行った.またタマネギ組織における Xe ハイドレー ト形成による影響を理解するため, スティミュレッ ティッドエコー法による拡散係数測定より細胞膜水透過 性の変化を観察した.そして、これらの結果をもとに、 タマネギ組織におけるガスハイドレートの形成プロセス および解離後の影響について論じることとした.

2. 試料と実験方法

2.1 試料の調整

北海道産のタマネギ (Allium cepa L.)を購入後,直 ちに4mm×4mm×10mmに切り出し,NMR用耐圧 試料管(耐圧1.0MPa)に入れた.Fig.1に示す圧力 付加ユニットを通して,雰囲気温度5°Cにて,試料管内 に0.8MPaのXe(99.995%,岩谷産業株式会社)を 封入・密閉した.Xeを封入後,密閉された組織は,雰 囲気温度5°Cの低温庫に保存された.ただし,本研究で はXe封入から3時間後,試料管に衝撃を与えて,タマ ネギ組織におけるXeハイドレート微細結晶の形成を促 した.また保存に伴うXe分圧の低下を防ぐため,適 宜,試料管内にXeを封入した.

2.2 ガスハイドレート形成割合の測定

25 MHz の¹H-NMR 装置(JNM-MU25A,日本電子 (㈱)を用いて,タマネギ組織中の Xe ハイドレート形成 割合の測定を行った. パルスシーケンスにはソリッドエ コー法を用い繰り返し時間(TR)は 30 s, 積算回数は 16 回とした.

試料に一定時間 90°パルスを照射すると,その照射 後,試料中のプロトンの磁化の和Mは指数関数的に自由 誘導減衰を起こす.この磁化Mの FID は,信号強度(S) として観測される.しかし,試料内に2つ異なる横緩和 時間 (T_2)を持つプロトンが存在する場合,ln(S) vs. 時間プロットは2つの異なる傾きを持つ直線を成すこと が知られている.従って式(1)より,得られた NMR 信号強度(S)を用いて試料中の固体を成すプロトンの割 合が計算できる(Gribnau, 1992).本研究では,この方 法を用いてタマネギ組織中に形成した Xe ハイドレート の形成割合(組織中の水における Xe ハイドレートに変 化した水の割合)を求めた.

SolidContent,
$$\% = \frac{S-L}{S} \times 100$$
 (1)

ただし、90°パルス照射直後の信号強度をS(試料中のプロトンの総量)、Sと傾きの分岐点の信号強度をL とした.

2.3 組織内部構造の観察

イメージング用プローブを付属した 400 MHz の¹H-NMR スペクトルメーター (AV400WB, Bruker)を 用い,マルチスライススピンエコー (MSE) 法による 組織内部の T_2 強調画像の測定を行った.測定中,ガス ハイドレートの解離を防ぐため,液体窒素を用いて測定 部の温度を5°Cに保った.試料の内部画像は,画像断面 層の厚み 0.5 mm,待ち時間 (TR) 1500 ms,繰り返し 時間 (TE) 8 ms,積算回数 8 回,画像マトリックス 128×128 の条件で測定した.



図1: 試料を調整するための圧力付加ユニット Fig. 1 Pressure introduction unit for preparation the sample.

2.4 水分子の拡散係数の測定

傾斜磁場勾配パルス発生装置を付属した 25 MHz の NMR装置(MU25A, JEOL)を用い,スティミュ レッティッドエコー法による拡散係数の測定を行った. 拡散観測時間 Δ[ms] とパルス幅 δ[ms] を一定に保ち ながら、磁場勾配強度g[Gauss・cm⁻¹]を変化させ、 シグナルを観察すると、その強度Sは式(2)に従って 減衰する.

$$\ln(S) = \ln(S_0) - D(\gamma \cdot g \cdot \delta)^2 (\Delta - \delta/3)$$
(2)

ここで γ は ¹H の磁気回転比で 4258 Hz • Gauss⁻¹ で ある. $(\gamma \cdot \delta \cdot g)^2 (\Delta - \delta/3)$ に対して ln (R) をプロットし て得られる直線の傾きから拡散観測時間(Δ)における 見かけの拡散係数 D[cm²・s⁻¹] を求めた. 本研究で は、磁場勾配強度は21.0~49.2 Gauss・cm⁻¹、拡散観 測時間 △ は 20~500 ms とした.

3. 結果

3.1 Xeハイドレート形成・成長の量的な変化

Xe封入・保存に伴うタマネギ組織の外観の変化を Fig.2に示す.Xe 封入から3時間後,タマネギ組織 (Fig 2(2))の表面に固体様の物質が形成した. すでに X線回折より、タマネギ組織に形成する固体様物質が Xe ハイドレートであることを確認している (Ando et al, 2009). 本研究で使用したタマネギ組織においても, Xe 封入から3時間後, Xe ハイドレートが形成するこ とが確認された.

測定された信号強度(S)と時間の関係をFig.3に 示す.使用した NMR 装置の測定精度を考慮して,得 られた NMR 信号強度において割合 10%未満の成分は、 誤差と判断した. 生鮮組織(Fig. 3(1)) および Xe 封入 直後の組織(Fig.3(2))では、1つの傾きからなる直線 が観察された.しかし,外観の変化より Xe ハイドレー



(1) Fresh tissue

Xe hydrate

図2:5°C, 0.8 MPaの Xe 分圧封入前後におけるタマネギ 組織の外観変化

Fig. 2 Visible change of onion tissue before and after introduction of 0.8 MPa Xe pressure at 5 °C.

トの形成が確認された Xe 封入から3時間後の組織 (Fig.3(3)) では、2つの傾きからなる直線に変化した. 従って,タマネギ組織には,異なる2つの運動性を持っ たプロトンが存在することが確認された. 早い傾きを持 つプロトンの T₂を計算した結果, 7 μs であった. 測定 に用いた NMR 装置は,90°パルス照射後,NMR 信号 が検出されるまで10 µsの時間を要する(デットタイ ム). この様に非常に短い T2は,石中に含まれる水 (Collett et al., 2006) や氷 (Overloop and Gerven, 1993)など固体試料において観察される.また、既往の 研究においてⅠ型のメタンガスハイドレートのプロトン の T_2 は、10 μ s 以下であることが示されている(Ripmeester and Ratcliff, 1989; Kleinberg et al., 2003). 従って、タマネギ組織で観察された試料中の $T_2 = 7 \, \mu s$ であるプロトンは、形成した Xe ハイドレートに由来し ていると考えらる.

これらの結果を踏まえて NMR 信号強度より, 試料 中の固体相と液体相に存在するプロトンの割合を算出し た.本研究では、固体相の割合を Xe ハイドレート形成 割合とした. その結果をFig.4に示す. Fig.4より, Xeハイドレート形成直後, すなわち Xe 封入から 3 時 間後の組織には19%のXeハイドレートが形成するこ とが示された.この組織をそのまま保存すると、保存1



Measurement time after second pulse, us

図3:ソリッドエコーパルスシーケンスを用いた NMR 測定 によって得られた Xe ハイドレート形成前後の NMR シグナ ルパターンの変化.

Fig. 3 Change of NMR signal pattern in onion tissue before and after introduction of Xe pressure by NMR measurement with solid echo pulse sequence.



図4:保存に伴うタマネギ組織における Xe ハイドレート形 成割合の変化.エラーバーは測定値の最小および最大を示す (n=3).

Fig. 4 Change of Xe hydrate formation ratio in onion tissue depending on preservation time. Error bar shows maximum and minimum values (n=3).

日後,Xeハイドレート形成割合は30%まで増加し,保存5日後の組織は46%の組織内の水がXeハイドレートへと変化していることがわかった.その後,その形成割合の増加は収束し,保存7日たっても48%であっ

た.

3.2 Xeハイドレート形成に伴う組織内部構造の変化

Fig.5にXeハイドレートの形成に伴う組織内部の変 化を観察したMRI画像を示す.MRI画像は,液状の 水が多い部分は白色,少ない又はない部分は黒色で示さ れる.そのため,固体状の水であるガスハイドレートが 形成すると黒色で示される.

Xe 圧力付加前の生鮮タマネギ組織には,組織内部に 細胞構造に由来した構造が見られた.すなわち,細胞コ ンパートメントに沿って水の少ない黒い箇所が観測され た.MRI 画像において,生鮮植物組織内の細胞コン パートメントが観察されることは既に示されている (Köckenberger, 2001).従って,生鮮タマネギ組織に おいても MRI 画像より細胞コンパートメントを観察で きたと考えられる.

MRI 画像で観察された組織内部の細胞構造は、0.8 MPaのXeを付加してから1時間後(Xeハイドレート 形成前)観測されにくくなった.既往の研究において、 Xeは水よりも,脂質に溶解しやすいことが報告されて いる(Cherubinia and Bifone, 2003).そのため、この 変化は,Xeの細胞膜(リン脂質)への溶解と関係した 変化と考えられる.一方,Fig.6に示す窒素にて0.8 MPaの圧力を付加した組織には,圧力を3時間付加し ても組織の内部構造にこの様な変化は見られなかった. 従って、物理的な圧力を付加しても細胞構造は喪失しな



図 5: Xe ハイドレート形成前後のタマネギ組織内部の MRI 画像. Fig. 5 MRI image in inner onion tissue before and after Xe hydrate formation



図 6: MRI 測定によって得られたタマネギ組織内部構造に 対する 0.8 MPa の窒素圧の影響. Fig. 6 Effect of 0.8 MPa N₂ pressure for internal structure in onion tissue measured by MRI.

いことが示された.よって観察された変化は、Xeの溶 解に由来した変化であると考えられた、しかし、組織に Xe ハイドレートが形成すると(Xe 付加より3時間後 の組織),再び、細胞構造に似た構造が観測されること が確認された.その後,Xeハイドレートの形成・成長 と共に、組織内部の特定の部位で黒いスッポトの様な構 造が観察されるようになった.保存8日後の組織では, そのスポットは非常に大きく成長していた.この様な黒 いスポットは,組織中の液体の水が Xe ハイドレートに 変化し、その運動性が低下したために観察されたと考え られた.また保存8日後の組織では、マネギ組織の四角 い外形が変形していた. これは組織表面の水が多量の Xeハイドレートへと変化したために観察されたと考え られる.この様なタマネギ組織へのXeの溶解および Xe ハイドレート形成に伴う内部構造の変化は、組織の 上部・中心部・下部のすべの場所で観察された.これら の結果より、本研究の実験条件において Xe ハイドレー



図7: $\Delta = 20 \text{ ms}$ 時の生鮮タマネギ組織における $\ln(\mathbf{R})$ と $(\gamma \delta \mathbf{g}) 2(\Delta - \delta/3)$ の関係.

Fig. 7 Relationship between ln (R) vs. $(\gamma \delta g)2(\Delta - \delta/3)$ in fresh onion tissue at diffusion time $\Delta = 20$ ms.

トは組織の表面だけでなく,組織の内部にも形成するこ とが示された.

以上の結果より、タマネギ組織をXe分圧内に静置す ることで、まず組織内にXeが十分に溶解し、その後、 Xeハイドレートの微細結晶が組織内部に一様に形成す ることが示された.そして、保存に伴い、組織の表面だ けでなく内部においてもXeハイドレートは成長するこ とが確認された.

3.3 Xeハイドレート形成・解離による細胞膜への影響

Fig. 7 に, スティミュレッティッドエコー法を用いた NMR 測定において, 拡散観測時間 $\Delta = 20 \text{ ms}$ の条件で 測定された生鮮組織の NMR 信号強度 ln(S) vs. (γ ·g· δ)² ($\Delta - \delta/3$)をプロットした結果を示す.タマネギ組織 中の水の拡散係数Dは, この直線の傾きである.本研究 において,この様な ln(S) vs. (γ ·g· δ)² ($\Delta - \delta/3$)プロッ トの直線関係は,Xe ハイドレート形成後の組織におい ても,すべての拡散観測時間 ($\Delta = 20 \sim 500 \text{ ms}$) で観測 された.

Fig.8に得られたDと Δ の関係を示す.ただし、制限拡散の程度を比較しやすくするため、 Δ =20~500 msの条件で測定された拡散係数(D)を、それぞれ Δ =20 msの条件で測定された拡散係数(D0)で割った値を



図8: Xe ハイドレート形成・解離後のタマネギ組織におけ る水分子の制限拡散程度の変化. 生鮮組織(●); Xe ハイド レート(8日間保存)形成・解離後の組織(○); 0.8 MPa 窒素分圧内に保存した組織(●).

Fig. 8 Change of restricted diffusion degree in water molecules of onion tissue before and after Xe hydrate formation and decomposition. Fresh tissue (\bullet); Tissue after Xe hydrate formation (8 d) and decomposition (\bigcirc); Tissue after pressurized 0.8MPa N₂ pressure (\bullet).

用いた.NMR を用いた拡散係数の測定において、細胞 など水分子の自由な拡散が制限される系では拡散観測時 間(Δ)の増加に伴って、見かけの拡散係数が減少し、 やがて一定値となる制限拡散現象が観察される.植物や 動物組織において、細胞内に水分子の拡散が制限されて いる場合、この制限拡散現象が観測されることが知られ ている (Anisimov et al., 1998; Clark and Bihan, 2000; Kinsey et al., 1999). 本研究で使用したタマネギにおい ても生鮮組織(●)で、△の増加に伴って見かけの拡散 係数が減少する制限拡散現象が観測された.すなわち, $\Delta = 20 \text{ ms } \mathcal{O}$ 時, Dは, $1.56 \times 10^{-9} \text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ であったが, $\Delta = 500 \text{ ms} \ \tilde{c} \ 1.05 \times 10^{-9} \text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ となった.この様な制 限拡散は、5℃、0.8 MPaのN₂分圧内にて7日間静 値された組織(●),すなわち,物理的に圧力を付加さ れた環境で保存された組織においても観測された.従っ て,保存や物理的な圧力付加によって組織中の細胞膜の 水透過性に関する機能は変化しないことが示された.

一方, Xe ハイドレート形成・解離後(保存期間7日), 組織(〇)の制限拡散現象はほとんど観察されなくなった.拡散係数は拡散観測時間(Δ)に関わらず,約1.26×10⁻⁹m²・s⁻¹と一定値を推移していた.この様な制限拡散の消失は,生鮮野菜組織を凍結・解凍処理したときに観察されることが知られている.既往の研究によれば,生鮮組織において水透過性の低い細胞膜は,凍結・解凍処理に伴う水移動現象に伴い著しい損傷を受けるといわれている(Ando et al, 2011).同様に,ガスハイドレート形成・解離処理も,組織内の細胞膜に著しいダメージを与え,細胞膜の機能が低下したため組織の水透過性が増大したと考えられた.

4. 考察

本研究の結果より、5℃、0.8 MPaの Xe分圧内に てタマネギ組織は、組織内の水を徐々に Xe ハイドレー トへと変化させることが確認された.本研究ではその量 的な変化だけでなく、組織表面・内部において形成・成 長してくことを確認した.既往の研究において、Moudrakovskiら(2004)は、MRI 測定にてイソペンタン 中の微小な水滴におけるメタンガスハイドレートの形成 過程について報告した.彼らは、水とガスが直接接触す ることのない系においても、ガスハイドレートは水滴表 面より形成し始め、表面より内側に徐々に形成していく ことを示した.しかし,液滴サイズが非常に小さい系で は,液滴内部より突然,ガスハイドレートが形成する場 合もあるとしている. この様な W/O 型エマルション は、細胞からなる組織モデルとして凍結保存に関する研 究でも使用される形態である(フランクス, 1989). 一 方,酸化エチレン(EO)水溶液を用いたニンジン組織 および牛筋肉組織における EO ハイドレートの形成・成 長を観察した結果,ガスハイドレートは細胞の周囲に形 成・成長することが示唆されている(Hulle and Fennema, 1971A, B).そして,彼らは,ガスハイドレート の形成は緩慢凍結時に見られる細胞外凍結と同様に,細 胞外より結晶が形成すると考察し,ガスハイドレートが 形成・成長することで細胞構造をゆがめるとした.

本研究では試料管に衝撃をあえることで, 組織中で Xeハイドレート核の形成を促す操作を行い、Xeハイ ドレートを形成・成長させた.また、タマネギ組織内の 細胞のサイズは約150 µm と大きい.既往の研究の結果 やこれらのことを考慮すると,本研究で使用したタマネ ギ組織では、細胞外部などの細胞膜近傍より Xe ハイド レートの形成が起こったと考えられる. タマネギ組織の MRI 測定において,Xeハイドレート形成直後の組織 に、 生鮮組織で観察されたような細胞構造が再び観察さ れた理由は, 組織内の細胞膜近傍に微細なハイドレート が形成したためと考えられる.また Xe ハイドレート形 成割合の検討より(Fig.3),本研究の実験条件である 5°C, 0.8 MPaの Xe 分圧中では組織内の水の約 50% しか Xe ハイドレートへと変化させることができなかっ た.既往の研究において、コーヒー水溶液における Xe ハイドレート形成の観察が行われ, Xe ハイドレートの 形成に伴いコーヒー成分が濃縮されるという報告がなさ れた (Purwanto et al., 2001). 従って, タマネギ組織 においてもその形成に伴い組織内溶液が濃縮し, Xeハ イドレート形成に必要な温度・圧力の条件が変わったと 考えられる.

緩慢凍結における既往の結果を考慮すると(フランク ス,1989),組織内部においてXeハイドレートが形 成・成長すると組織の細胞構造にゆがみを与えると考え られる.ゆがみの影響は,制限拡散現象の観察によって 示された解離後の細胞膜の水透過性の変化として観察さ れた.Xeハイドレートの解離中,組織からXeの泡が 組織外部へ激しく流出する.そのため,Xeハイドレー ト形成・解離後の組織の細胞膜水透過性の増大は,Xe ハイドレートの形成だけによって引き起こされた変化で はないと考えられるが,その形成過程を観察した結果, Xeハイドレートの形成・成長に伴う影響も大きいと考 えられた.

本研究の結果を総合的に考察し、タマネギ組織におけ るXeハイドレート形成プロセスをFig.9の様に仮説づ けた.低温で、タマネギ組織をXe分圧中に静値する と、ガス分子は組織内を拡散し、溶解度の高い細胞膜に 多量に溶解を始める.その後、この細胞膜に溶けたガス 分子から細胞内の水へ溶解を始めると共に、ガス分子の 溶解によって組織内の水は構造化を始める.ここで振動 などの外的刺激が加わると、凍結過程で観察される過冷 却解消に似た現象が起こるため、ガス濃度の勾配に従っ て、細胞内でガスハイドレートの形成が起こる(不均質



図9:植物組織におけるガスハイドレート形成メカニズムの 仮設

Fig. 9 Hypothesis of the gas hydrate formation mechanism in plant tissue.

ガスハイドレート核形成プロセス). この過程では,ガ ス濃度の勾配に従って,細胞膜と細胞内溶液界面付近に ガスハイドレートが形成されるため,ガスハイドレート 形成に伴い細胞膜に対するダメージが生じてしまうと考 えられる.しかし,本研究ではプロトンの測定のみを 行っているため,Xeが細胞のどの部分に局在化してい るかといった情報に言及することはできない.そのた め,今後,Xe分子にも着目した検討を行うことで,生 体組織におけるガスハイドレート形成プロセスをより詳 細に示すことができると考える.

参考文献

- Ando H., Kajiwara K., Oshita S. and Suzuki T. (2011) The effect of osmotic dehydrofreezing on the role of the cell membrane in carrot texture softening after freeze-thawing. *J. Food Eng.*, **108**, 473-479.
- Ando H., Suzuki T., Kawagoe Y., Makino Y. and Oshita S. (2009) Detection of Xenon gas hydrate formation in

onion tissue for the application to chilling temperature storage. 5th International Technical Symposium on Food Processing, Monitoring Technology in Bioprocesses and Food Quality Management, p3, Germany.

- Anisimov A. V., Sorokina N. Y. and Dautova N. R. (1998) Water diffusion in biological porous systems: a NMR approach. *Magn. Res. Imaging*, **16**, 565–568.
- Cherubini A. and Bifone A. (2003) Hyperpolarised xenon in biology. Progress in Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy, 42, 1-30.
- Clark C. A. and Bihan D. L. (2000) Water diffusion compartmentation and anisotropy at high b values in the human brain. *Magnetic Resonance in Medicine*, **44**, 852–859.
- Collett T. S., Lee M. W., Goldberg D. S., Rack F. R. and Williams T. (2006) Data Report: nuclear magnetic resonance logging while drilling, ODP Leg 204, "Proceedings of the ocean drilling program. *Scientific results volume* 204 (Eds. by Tréhu A. M., Bohrmann G., Torres M. E. and Colwell F. S.)", pp.1–22, ODP, Texas.
- Gribnau M. C. M. (1992) Determination of solid/liquid ratios of fats and oils by low-resolution pulsed NMR, *Trend in Food Science and Technology*, **31**, 186–190.
- Huang C. P., Fennema O. and Powrie W. D. (1965) Gas hydrates in aqueous-organic systems. I. Preliminary studies, *Cryobiology*, 2, 109–115.
- Hulle G. V. and Fennema O. (1971A). Gas hydrates in aqueous-organic systems. V. Effects of ethylene oxide and ethylene oxide hydrate in animal tissue. *Cryobiology*, 7, 4-6.
- Hulle G. and Fennema O. (1971B). Gas hydrates in aqueous-organic systems. VI. Effects of hydrate formers and hydrate crystals in carrot tissue. *Cryobiology*, 8, 91–103.
- Kinsey S. T., Locke B. R., Penke B. and Moerland T. S. (1999) Diffusional anisotropy is induced by subcellular barriers in skeletal muscle. *NMR in Biomedicine*, **12**, 1-7.
- Kleinberg R. L., Flaum C., Straley C., Brewer P. G., Malby G. E., Peltzer E. T., Friederich G. and Yesinowski J. P. (2003) Seafloor nuclear magnetic resonance assay of methane hydrate in sediment and rock. *J. Geophys. Res.*, **108**, 1–13.
- Köckenberger W. (2001) Nuclear magnetic resonance micro-imaging in the investigation of plant cell metabolism. *Journal of Experimental Botany*, **52**, 641-652.
- Moudrakovski I. L., McLaurin G. E., Ratcliffe C. I. and Ripmeester J. A. (2004) Methane and carbon dioxide hydrate formation in water droplets: Spatially resolved measurements from magnetic resonance microimaging. J. Phys. Chem. B, 108, 17591–17595.
- Overloop K. and Gerven L. V. (1993) Freezing phenomena in adsorbed water as studied by NMR. *J. Magn. Res. Series A*, **101**, 179-187.
- Purwanto Y. A., Oshita S., Seo Y., Kawagoe Y. (2001) Concentration of liquid foods by the use of gas hydrate. J. Food Eng., 47, 133-138.
- Ripmeester J. A. and Ratcliffe C. I. N. (1989) Solid-state

NMR studies of inclusion compounds. *Res. Counc. Can., NRCC*, 1181–1189.

- Raftery D. (2006) Xenon NMR Spectroscopy, Ann. Rep. NMR Spec., 57, 207–270.
- Pauling L. (1961) A molecular theory of general anesthesia, *Science*, **124**, 15–21.
- Salon E. D. and Koh C. A. (Eds). (2007) *Clathrate hydrate of natural gases 3rd*, 720pp, CRC press, New York.
- フランクス F. (村瀬則郎, 片桐千仭 訳). (1989). 低温 の生物物理と生化学, 253 pp, 北海道大学図書刊行会, 北 海道.

Raman spectroscopic measurements on DEPC liposome: phase transition observation under Xe-gas pressure

Tsutomu Uchida¹⁾, Amadeu K. Sum²⁾

2012年9月18日受付, 2012年11月22日受理

Raman spectroscopic analysis was applied to observe the phase transition of dielaidoylphosphatidylcholine (DEPC) liposome under 0.5 MPa Xe pressurization conditions. After the band assignments on DEPC molecule, detailed measurements of the methylene C-H stretching mode spectra were performed. The data revealed that all three peaks associated with DEPC, including the C-H stretching mode, shifted to lower wavenumbers at lower temperatures and that the relative intensities of Raman spectra changed simultaneously. These changes on Raman spectra occurred at approximately 280 K, suggesting a gel to liquid crystalline phase transition. This temperature is lower than that under atmospheric pressure, and it is consistent with DEPC liposomes exposed to Xe measured with differential scanning calorimetric under similar conditions.

1. Introduction

Xenon (Xe) is the noble gas known to be a potent general anesthetic gas. General anesthesia is exhibited through the depression of nerve function, but the specific molecular mechanism by which anesthetic agents induce an anesthetic state remain poorly understood. One of the molecular mechanisms of general anesthesia which has been studied for over 80 years is known through the Mayer-Overton correlation. This model suggested that the anesthetic gases dissolve in the lipid bilayer of neurons to reduce the ion-channel activity (Mayer, 1899; Overton, 1901). Later, another molecular mechanism of general anesthetic was proposed by Pauling (1961) and Miller (1961). The theory proposed by Pauling and Miller suggested that anesthetic gases could form clathrate hydrates, so the gas would block the diffusion of signal-transmitting molecules at the synaptic junction by forming a clathrate structure. More recently, some researchers have focused on a mechanism involving direct interactions between hydrophobic pockets or clefts in proteins, especially integral membrane proteins such as

gated-ion channels, and anesthetic gases (Franks and Lieb, 1984). In order to study the effect of Xe on the neuronal activities, Uchida et al. (2012) measured the firing of neuronal networks under Xe-gas pressure. They observed that the synchronized bursts in the neuronal network were inhibited when exposed to Xe-gas pressure while the single firing of neuron survived. While insightful, these measurements have still not been able to provide a more detailed molecular mechanism of general anesthetics.

Booker and Sum (in press) investigated the interaction of Xe with model phospholipid membranes using molecular dynamics (MD) simulations of pure dioleoylphoshatidyl choline (DOPC) bilayers in two initial configurations with Xe at a range of concentrations and pressures and over timescales of $150 \sim 300$ ns. High-pressure differential scanning calorimetry (HP-DSC) measurements were also presented to characterize the effect of Xe on lipid (dielaidoyl- phosphatidylcholine: DEPC) membrane phase transition temperatures and fluidity. MD simulations revealed that Xe atoms exerted broad biophysical changes on the membrane fluidity, lateral pressure profiles near the lipid head groups, and bilayer structure by substantially increasing the lipid head groups spacing and bilayer thickness. The HP-DSC measurements revealed that the gel to liquid crystalline phase transition occurred at temperatures of 285.0, 282.5, and 278.4

Division of Applied Physics, Faculty of Engineering, Hokkaido University

Department of Chemical and Biological Engineering, Colorado School of Mines

K under 0, 0.3, and 1.0 MPa of Xe gas, respectively. These results differ from the pressure effect on the phase-transition temperature of lipid bilayer (Booker and Sum, in press).

Following their studies, we performed Raman spectroscopic measurements on DEPC liposomes to observe the change of molecular vibration across the membrane phase transition temperature under Xe pressure.

2. Experimental Procedures

The preparation procedures of liposome solution were similar to that of Booker and Sum (in press). Here we briefly present the procedure. As the model lipid, 18:1 (Δ 9-Trans) phosphocholine (DEPC) in powder form, obtained from Avanti Polar Lipids, was used for the liposome (large multilamellar vesicles) solution by dissolving 20 mg/mL of powdered DEPC lipids into deionized water. Lipids were mixed vigorously for one hour and the liposomes were then allowed to age overnight at room temperature, approximately 300 K, which was above the DEPC phase transition temperature, $T_m = 285$ K (Silvius, 1982).

Prior to the Raman spectroscopic measurements, the macroscopic features of the prepared liposome sample were observed by a phase-contrast microscope (Olympus, CKX41). The detailed feature of each large multilamellar vesicle was observed by preparing the freeze-fractured replica sample of the solution. The detailed procedures of the replica preparation are described elsewhere (Uchida et al., 2011). A small amount of the liposome solution (approximately 15 mm³) was rapidly frozen by immersing it into a liquid nitrogen bath. The frozen droplet was then fractured under vacuum (10^{-4} to 10^{-5} Pa) and low temperature (approximately 100 K), and the replica film of the fractured surface was prepared by evaporating platinum and carbon (JEOL Ltd., JFD-9010). We used a field-emission gun-type transmission electron microscope (FEG-TEM; JEOL Ltd., JEM-2010) to observe the replica film at a 200 kV acceleration voltage.

Raman spectra were measured by SPEX Raman 750 spectrometer with 50 mW Ar⁺ laser (514.5 nm) through the microscope equipped with the long-working distance objective lens (LMPlanFLN x50). The scattered radiation was collected through a slit with 180° geometry at 200 μ m. The diameter of the incident laser beam focused on the specimen was

maintained at approximately 10 μ m. Each Raman spectrum was obtained by three consecutive 60 s accumulation. For the spatial averaging, Raman spectra at more than three positions for each condition was collected and averaged. The spectrum of the neon-emission was used for the correction of the wavenumber measurement. Each Raman spectrum was then analyzed by peak deconvolution with the peaks fitted to Voigt curves to estimate the intensity (area of the fitting curve) and the peak position (peak wavenumber) with commercially supplied software (Originlab Co., OriginPro 9.0).

Approximately 100 μ L of the DEPC liposome solution was introduced to the high-pressure vessel (Taiatsu Techno Co.) equipped with the sapphire glass windows. The sample temperature was controlled by a refrigeration unit (Neslab RTE-111), which was monitored with thermocouple (T-type) to ± 0.2 K. The high-pressure vessel was connected to a Xe cylinder (99.995% purity, Air-Water Inc.) and the pressure was monitored by a pressure transducer (Taiatsu Techno Co., SE700T). In the present study, Xe gas was pressurized at 0.5 ± 0.02 MPa after flushing the cell a few times initially. Temperature and pressure readings were recorded with a data logger (Graphtech, GL220).

3. Results and Discussion

3.1 Observation of DEPC liposomes

Typical features of DEPC liposomes (large multilamellar vesicle) are shown in Fig. 1. The optical microscopic image (Fig. 1a) indicates that the vesicles (1 \sim 10 μ m diameter) are formed in the solution although they are partly aggregated. In order to obtain good signal-to-noise ratio Raman scattering, we focused the laser on these aggregated vesicles. The FEG-TEM image of the vesicle (Fig. 1b) shows that the typical size of the vesicle ranged from submicrons to several microns in diameter. This is consistent with the optical microscopic observations. The surface of the vesicle is mainly smooth, but we sometimes observed the typical striped pattern (known as a bonded structure, shown by a thin arrow) and the island structures (shown by a dashed circle) on parts of the surface. The interval of the stripes is approximately 15 nm. When part of the vesicles was fractured, we were able to observe the cross section of the vesicle as shown by the thick arrow in Fig. 1b.



Fig. 1 : A typical feature of the DEPC liposome (large multilamellar vesicle): (a) optical microscopic image (scale bar 20 μ m), and (b) FEG-TEM image of the freeze-fractured replica of the vesicle (scale bar 500 nm). A part of this vesicle has been removed with freeze-fracture process, and its cross section (thick arrow) shows the multiple DEPC layers (at least four layers). The typical stripped pattern (thin arrow) and the island structures (dashed circle) are observed on parts of the surface.

This figure shows that the vesicle is multilamellar (at least four layers), and each layer has a thickness of approximately 20 nm. Since each lipid bilayer is approximately 4 nm (Booker and Sum, in press), this thickness includes the water between the bilayers.

3.2 Raman spectra of DEPC under various conditions

Typical Raman spectra of the DEPC powder were recorded as the reference in the present study (Fig. 2a). Based on the band assignment for other lipids



Fig. 2: Typical Raman spectra of (a) DEPC powder and (b), (c) DEPC liposome solutions. Each measurement condition is (a) room temperature (\sim 300 K), (b) 302.7 K at atmospheric pressure, and (c) 276.4 K at 0.5 MPa Xe pressure.

such as C(18):C(10)PC and C(18):C(10)TMPC (Batenjany, et al., 1994), several peaks are assigned as follows: C-N symmetric stretching mode (\sim 750 cm⁻¹), methylene C-C stretching mode (triple peaks between 1030 and 1150 cm⁻¹), CH₂ twist mode and bending mode (at around 1300 and 1440 cm⁻¹, respectively), and methylene C-H stretching mode (triple peaks between 2800 and 3100 cm⁻¹).

The Raman spectrum for DEPC in solution is shown in Fig. 2b. It includes the peaks for the lipids and water (O-H stretching mode) between 3000 and 3800 cm⁻¹. Figure 2c shows the typical Raman spectrum of DEPC liposome solution at lower temperature under Xe gas pressure. As shown in Fig. 2, because the spectrum for the water O-H stretching mode is dominant, we focused our measurements in the methylene C-H stretching mode of DEPC, as it has the largest Raman scattering among the peaks for DEPC.

Figures 3a~b show the spectra for the C-H stretching mode for DEPC for the sample pressurized with 0.5 MPa Xe at 302.5 K. At those conditions, no significant changes on the Raman spectra were observed. Then the sample temperature was gradually decreased at approximately 2 K per hour. Since

methylene C-H stretching mode is known to be composed of three peaks (Batenjany, et al., 1994), the C-H symmetric stretching mode (lowest wavenumber around 2840 cm⁻¹), the C-H anti-symmetric stretching mode (middle wavenumber around 2880 cm⁻¹) and the terminal CH3 symmetric stretching mode (highest wavenumber around 2920 cm⁻¹), we deconvoluted each Raman spectra with three Voigt curves. The peak position of each deconvoluted peak is summarized as a function of temperature in Fig. 4. Since the variation in the peak position was smaller than the observed wavenumber range, the C-H symmetric stretching mode was selected to show the temperature dependence (see Fig. 4a, extended plot). These plots show that all three peaks are slightly shifted at around 280 K. The relative peak intensities of the lowest peak and the highest peak were calculated as the intensity ratios related to the intensity of the middle peak. The temperature dependence of the relative peak intensities (Fig. 5) also indicated changes at around 280 K. This coincidence in the change of the spectra suggests that the gel to liquid crystalline phase transition temperature of the DEPC liposome under 0.5 MPa Xe pressure.



Fig. 3 : Temperature dependence of Raman spectra of DEPC liposome on the methylene C-H stretching mode: (a) 302.7 K, atmospheric pressure, (b) 303.1 K, 0.5 MPa Xe, (c) 287.5 K, 0.5 MPa Xe, (d) 285. 5 K, 0.5 MPa Xe, (e) 283.2 K, 0.5 MPa Xe, (f) 281.4 K, 0.5 MPa Xe, (g) 280.2 K, 0.5 MPa Xe, (h) 278. 4 K, 0.5 MPa Xe.



Fig. 4 : Temperature dependence of Raman peak wavenumbers of DEPC on the methylene C-H stretching mode: (a) C-H symmetric stretching mode (lowest wavenumber around 2840 cm⁻¹: squares), (b) C-H anti-symmetric stretching mode (middle wavenumber around 2880 cm⁻¹: circles), and (c) terminal CH₃ symmetric stretching mode (highest wavenumber around 2920 cm⁻¹: triangles). Open marks indicate the data under atmospheric pressure and solid marks are under 0.5 MPa Xe pressure. Each dashed line shows the peak position of powder DEPC. The extended figure is the enlargement of (a).



Fig. 5 : Temperature dependence of Raman peak intensities of DEPC on the methylene C-H stretching mode: (open circles) the C-H symmetric stretching mode (I_{2840}) / the C-H anti-symmetric stretching mode (I_{2830}) , and (solid circles) the terminal CH₃ symmetric stretching mode (I_{2920}) / the C-H anti-symmetric stretching mode (I_{2880}) .

The peak position of the three methylene C-H stretching modes shifted to lower wavenumbers and the peak intensity of the C-H anti-symmetric stretching mode became larger below the phase transition temperature. These spectra change suggested the mobility change of the lipid molecules in the liposome.

These Raman spectra changes qualitatively coincided to other lipids such as 1,2-di- *O*-hexadecyl-*sn*-glycero-3-phosphocholine (DHPC) (Levin, et al., 1985), 1stearoy-2-capryl-*sn*- glycero-3-phosphocoline (C(18): C(10)PC) (Batenjany, et al., 1994), 1-stearoy-2-capryl*sn*-glycero-3- phospho-*N*-trimethylpropanolamin (C(18):C(10) TMPC) (Batenjany, et al., 1994), and 1,2dipalmitoyl-sn-glycero-3-phosphocoline (DPPC) (Fox, et al., 2007). This mobility change was maintained to lower temperatures than the normal liposome due to the existence of Xe molecules in the lipid bilayers.

Based on the HP-DSC measurements (Booker and Sum, in press), the phase transition temperature would be approximately 280 K. This temperature is in good agreement with that observed in the present study.

4. Conclusions

Raman spectroscopic analysis was applied to observe the phase transition of DEPC liposome under pressurized Xe conditions. The detailed measurements of the methylene C-H stretching mode spectra revealed that the phase transition temperature was shifted to lower temperature, approximately 280 K, under 0.5 MPa Xe pressure. This temperature is consistent with that estimated by another study with HP-DSC measurements.

This study showed several technical achievements, demonstrating the challenge in quantifying the biophysical changes to liposomes. In particular, we were able to obtain accurate peak analysis from low S/N spectra and accurate temperature and pressure controlling and monitoring on the sample. This experimental approach has the advantage of combining the microscopic scale of the molecular motions suggested by molecular dynamics simulations and the mesoscopic scale of lipid activity changes from molecular vibration.

Acknowledgments

This work was partly supported financially by a Grant-in-Aid for Scientific Research from the Japan Society for the Promotion of Science (Grant Nos. 23350001), collaborated with Prof. K. Gohara and Dr. M. Nagayama (Hokkaido Univ.). TEM observations were financially supported by the Nanotechnology Platform program and technically supported by Dr. N. Sakaguchi and Dr. T. Shibayama (Hokkaido Univ.).

References

- Batenjany, M. M., Wang, Z.-Q., Huang, C.-H., Levin, I. W.: Bilayer packing characteristics of mixed chain phospholipid derivaties: Raman spectroscopic and differential scanning calorimetric studies of 1-stearoyl-2-capryl*sn*-glycero-3-phosphocholine (C(18):C(10)PC) and 1stearoyl-2- capryl-*sn*-glycero-3-phospho-Ntrimethylpropanolamine (C(18):C(10)TMPC), *Biochim. Biophys. Acta*, **1192**, 205~214 (1994).
- Booker, R. D., Sum, A. K.: Biophysical changes induced by xenon on phospholipid bilayers (in press in *Biochim. Biophys. Acta-Biomembranes*).
- Fox, C. B., Uibel, R. H., Harris, J. M.: Detecting phase transitions in phosphatidylcholine vesicles by Raman microscopy and self-modeling curve resolution, *J. Phys. Chem. B*, **111**, 11428~11436 (2007).
- Franks, N. P., Lieb, W. R.: Do general anesthetics act by competitive binding to specific receptors?, *Nature*, **310**, 599~601 (1984).
- Levin, I. W., Keihn, E., Harris, W. C.: A Raman spectroscopic study on the effect of cholesterol on lipid packing in diether phosphatidylcholine bilayer dispersions, *Biochim. Biophys. Acta*, 820, 40~47, (1985).
- Mayer, H.: Zur theorie der alkoholnarkose. *Naunyu-Schmiedeberg's Arch Pharmacol.*, **42**, 109~118 (1899).
- Miller, S. L.: A theory of gaseous anesthetics. Proc. Natl. Acad. Sci., 47, 1515~1524 (1961).
- Overton, C.: Studien uber die Narkose: Zugleich ein Beitrag zur Allgemeinen Pharmakologie (Verlag von Gustav Fischer, Jena) (1901).
- Pauling, L.: A molecular theory of general anesthesia. Science, 134, 15~21 (1961).
- Silvius, J.: Thermotropic phase transitions of pure lipid in model membranes and their modifications by membrane proteins. John Wiley & Sons, Inc., New York (1982).
- Srinivasan, K. R., Kay, R. L., Nagle, J. F.: The pressure dependence of the lipid bilayer phase transition. *Biochemistry*, **13**, 3494~3496 (1974).
- Uchida, T., Oshita, S., Ohmori, M., Tsuno, T., Soejima, K., Shinozaki, S., Take, Y., Mitsuda, K.: Transmission electron microscopic observations of nanobubbles and their capture of impurities in wastewater, *Nanoscale Research letters*, **6**, 295-1~9 (2011).
- Uchida, T., Suzuki, S., Hirano, Y., Ito, D., Nagayama, M., Gohara, K.: Xenon-induced inhibition of synchronized bursts in a rat cortical neuronal network, *Neuroscience*, 214, 149~158 (2012).
アモルファス氷の構造緩和と ポリアモルフィック転移

鈴木 芳治¹⁾

2012年9月27日受付, 2012年12月28日受理

水のポリアモルフィズムを理解するために、水の過冷却液体やアモルファス氷に関する研究が進め られてきた.特に、ポリアモルフィズムの兆候を示す2種類のアモルファス氷の実験的研究は活発に 進められてきた.しかし、アモルファス氷は常に非平衡状態下にあるため、アモルファス氷から得ら れた情報は十分に注意して取り扱う必要がある.本研究では、アモルファス氷の加圧による構造緩和 と昇温による構造緩和について実験的に調べ、構造緩和とポリアモルフィック転移の違いを明確に示 した.

Structural relaxation and polyamorphic transition of amorphous ices

Yoshiharu Suzuki¹

In order to understand the water polyamorphism, many researchers have been studied the super-cooled liquid water and the amorphous ices. In particular, the experimental studies of the two kinds of amorphous ice, low-density and high-density amorphous ices, which exhibit the polyamorphic phenomena, have been performed actively. However, it is necessary to deal carefully with the experimental information obtained from amorphous ices, because the amorphous ices are always under non-equilibrium conditions. In this study, we examine the polyamorphic transition and the structural relaxation of amorphous ices by the isothermal compression and clarify the differences between the polyamorphic transition and the structural relaxation of general glassy materials.

キーワード: ガラス, アモルファス氷, ポリアモルフィズム, 構造緩和, ポリアモルフィック転移 glass, amorphous ice, polyamorphism, structural relaxation, polyamorphic transition

1. 一般的なガラス

一般に,高温にある液体状態の物質を結晶化させずに 冷却した時,その物質は過冷却液体状態を経て,ある温 度範囲で急激に粘性が増大し,流動性を失ってガラス化 する.このガラス状態での分子(原子)の配置は長距離 秩序を持たず,その構造はガラス化する前の液体の状態 と関連している.しかし,分子の動きは見掛け上凍結し ているので,ガラス状態は準安定な非平衡状態にある. また,加圧によっても,同じ様な液体のガラス化が知ら れている.

ガラス状態は生成条件や生成過程に大きく依存する.

1)物質·材料研究機構

¹ National Institute for Materials Science (NIMS), Ibaraki, Japan

E-mail: SUZUKI.YOSHIHARU@nims.go.jp

例えば,ある冷却速度で液体をガラス化した場合,ガラ ス状態A(図1)が形成される.一方,それより遅い速 度で液体を冷却した場合,準安定の過冷却液体状態がよ り低温まで実現でき,より低い温度でガラス化する.こ の時のガラス状態Cは先の状態Aとは異なる状態にな る.従って,生成条件を変えると,図1に示すように 様々なガラス状態が形成され,それらのガラスの物性は 異なる.(Ediger et al. (1996);直木 (1999))

ガラス状態の物質は高粘性のため、圧力の変化に状態 変化が追従できず、平衡状態の物質の変化とは異なった 変化を示す。例えば、図1の矢印で示すように、状態A のガラスを温度一定で加圧した時、このガラスはある圧 力で徐々に体積減少を引き起こし、状態Cのようなより 安定な状態に向って変化する.(圧力誘起緻密化)この ようなスッテプ状の体積変化は、ガラスがより平衡状態 に近づくための構造緩和と関係している.しかし、高粘 性下で起こる状態変化であるため、緩和した状態も決し



図1:液体とガラスの圧力-体積-温度(*P-V-T*)状態の模式 図.ガラスの生成過程により,形成されるガラス状態(A~ E)が異なる.*T_g*と*P_g*はガラス転移温度とガラス転移圧力 を表す.

Fig.1: Schematic pressure-volume-temperature surface of liquid and glassy states. The different glassy states (A \sim E) are formed by the different preparations. T_g and P_g stand for the glass transition temperature and the glass transition pressure, respectively.

て平衡状態には達していない.

2. 2つのアモルファス氷

水(H₂O)は非常に結晶化し易い物質であり、1気 圧で水を冷却すると0℃で結晶氷(氷 Ih)になる.氷 の結晶構造は温度・圧力に依存し、複数の氷の結晶相が 確認されている.このような、単一組成で複数の結晶構 造が存在することを「ポリモルフィズム」という. 一 方,水の固体状態には結晶の他に少なくとも2種類のガ ラス状態,低密度アモルファス氷 (Low-Density Amorphous ice:LDA)と高密度アモルファス氷 (High-Density Amorphous ice: HDA),の存在が知ら れている. (Mishima and Stanley (1998); Debenedetti (2003); Poole et al. (1992)) LDA は,水蒸気の冷却基盤 への蒸着 (Burton and Oliver (1935)),小さな水滴の冷 却基盤上での超急冷(冷却速度は約10°K/s)(Brüggeller and Mayer (1980)), または HDA からの転移(Mishima et al. (1985); Mishima (1994)) によって作られ る.一方,HDAは低温での結晶氷Ihの圧力誘起アモ ルファス化 (Mishima et al. (1984)), もしくは LDA の 加圧(Mishima et al. (1985); Mishima (1994))によって 作られる. HDA は LDA より約 20%ほど密度が高く, 全く異なった局所構造を取ることがわかっている. LDAもHDAもその構造に長距離秩序は存在せず、 LDA の分子配置は結晶氷 Ih の構造に似た隙間が多い構 造をとり,HDAの分子配置は高圧結晶氷(例えば氷 VI)に似た水素結合ネットワークが互いに入れ子に なった密な配置をとると考えられている.そして,この 2つのアモルファス氷に関する最も興味深い現象は, LDAとHDA間で不連続な転移(ポリアモルフィック 転移)が起こることである.(Mishima et al. (1985), Mishima and Suzuki(2002))

LDA と HDA を昇温すればそれぞれのガラス転移温 度以上でそれぞれに対応した液体,低密度水 (Lowdensity Liquid water:LDL)と高密度水(High-Density Liquid water: HDL), に転移すると考えられ る. (Mishima and Stanley (1998); Debenedetti (2003); Poole et al. (1992)) つまり, 2つのアモルファス氷の存 在は,水に2つの液体状態が存在することを暗示してい る. さらに、LDAとHDAの転移の本質が一次(不連 続)相転移なら,LDLとHDLに関する臨界点 (Liquid-Liquid Critical Point:LLCP) が存在するこ とが示唆される. (Mishima and Stanley (1998); Debenedetti (2003); Poole et al. (1992)) このように, 液 体のポリモルフィズム(つまり、単一組成で2つ以上の 乱れた状態が存在すること)を、「ポリ'ア'モルフィズ ム」と呼んでいる.図2にポリアモルフィズムによる水 の状態図(模式図)を示す.

水のポリアモルフィズムの実験による直接的な検証は 非常に難しい.なぜなら,液体水やアモルファス氷は結 晶化領域(no-man's land)で急速に結晶化してしまう ため,アモルファス氷の液体へのガラス転移やLLCP 付近の水の動的状態を直接観測することが難しくなるか らである.従って,水のポリアモルフィズムの実験的検 証は,その兆候が現れる2つのアモルファス氷に対して 中心的に行われてきた.

しかし、アモルファス氷の実験・観測は常に非平衡状 態下で行われるため、実際に観測される状態変化や得ら れた実験結果の解釈には十分な注意を払う必要がある. (Suzuki and Mishima (2009)) アモルファス氷も一般の ガラス物質と同様に高粘性であるため, 圧力の変化に対 してその状態変化は遅れて起こる.例えば、LDA-HDA 転移は実際に不連続な転移として観測されるが、その観 測結果が転移の本質が不連続であることの厳密な証拠に はなっていない.同様な理由で、アモルファス氷の体 積,圧縮率などの熱力学的な物性値も正確に定めること ができない. さらに、HDA は結晶氷の圧力誘起アモル ファス化等により作成されるため,液体をそのまま冷却 して作る通常のガラス状態とは異なり, HDA の内部に は応力や密度,水素結合の欠陥などの局所的な不均一性 が残存する.このため、アモルファス氷の状態の安定 性,アモルファス氷の微結晶性,アモルファス氷のガラ ス転移の存在, HDA と液体状態との熱力学的連続性な どの議論が現在も続いている.



図2:ポリアモルフィズムによる水の液体状態の模式図.水 は過冷却液体領域に2つの液体状態,低密度水(LDL)と 高密度水(HDL),が存在する.また,LDLとHDLに関係 した液-液臨界点(LLCP)が存在する.より低温では, LDLとHDLのガラス状態,低密度アモルファス氷 (LDA)と高密度アモルファス氷(HDA),が存在する. T_H は水(液体)の均一核生成温度, T_x はアモルファス氷を昇 温した時に結晶化する温度を表す. $T_H と T_x$ の間のnoman's land(結晶化領域)では、すぐに結晶化してしまうた め、この領域で水の液体状態を観察することは難しい.noman's landの存在のため現時点ではLDAとHDAのガラス 転移温度の位置は実験的に決まっていない.

Fig.2: Schematic state diagram of liquid water from a viewpoint of water polyamorphism. There are two liquid waters, low-density and high-density liquid waters (LDL and HDL), in the super-cooled liquid region. In addition, a liquid-liquid critical point (LLCP) relating to two liquid water exists. When the LDL and the HDL are cooled, they change to low-density amorphous ice, LDA, and high-density amorphous ice, HDA, respectively. It is difficult to examine the liquid water in no man's land between T_H and T_x because of rapid crystallization of liquid water, where T_H is homogeneous nucleation temperature of liquid water and T_x a crystallization temperature of amorphous ices. The location of glass transition temperatures for LDA and HDA is not clarified yet because of the existence of the no man's land.

本論文では,非平衡状態下で起こるアモルファス氷の 状態変化の取り扱いについて考える.特に,HDAの温 度変化と圧力変化による構造緩和に関する実験結果につ いて考察する.そして,構造緩和とポリアモルフィック 転移の比較から,HDAの状態の本質について議論す る.尚,本論文では水のポリアモルフィズムの正当性に 関して詳しく論じないが,現時点(2012年時点)では 「2つの液体状態の水の存在」と「LLCPの存在」が もっともらしいことが,実験,理論,計算機実験などで 指摘されている. (Murata and Tanaka (2012); Mishima (2010); Cuthbertson and Poole (2011); Holten et al. (2012))

3. 実験方法

本研究の低温高圧実験(温度一定での加圧・減圧によ る体積変化測定と圧力一定での昇温による体積変化測 定)はピストン-シリンダー型圧力装置を用いて行われ た.室温で試料が一定量のインジウム容器に封入され, 試料と容器の重量を測定した後、シリンダー内に設置さ れる.試料はピストンシリンダーと一緒に液体窒素で冷 やされた雰囲気内に置かれ,試料の温度はシリンダーに 取り付けられたヒーターによって調整される.試料温度 の精度は±2Kである.試料の比体積値は,測定され たピストンの変位からあらかじめ測定されていた容器だ けのピストンの変位(温度と圧力の関数)を差し引いた 値から換算された.この時の比体積値の精度は1%以内 である.高圧実験での加圧速度は約2MPa/sであり, 圧力の絶対精度と相対精度は±0.01と±0.05 GPaであ る.

試料のラマン分光測定は顕微ラマン分光器 (Jobin Yvon T-64000) によって行われた.レーザー光源はア ルゴンイオンレーザー (波長488 nm:出力:400 mW) が使われた.77 K, 1気圧で回収された試料は, 温度コントローラー付きの冷凍装置に設置され,試料の ラマン分光測定は約35 K で行われた.

4. 加圧によるガラスの構造緩和とポリアモル フィック転移

ガラスには加圧によりステップ状の体積変化を示す現 象が少なくとも2種類あることが知られている.1つは 「圧力誘起緻密化」であり,もう一つは「ポリアモル フィック転移」である.ガラスの圧力誘起緻密化は少な くとも1950年代には知られていた構造緩和の一種であ る.(Bridgman and Simon (1953); Mackenzie and Laforce (1963))一方でポリアモルフィック転移は1985 年に発見された1次の相転移現象であり(Mishima et al.(1985)),構造緩和とは本質的に異なる現象である. しかし,両者の体積変化は非平衡状態下で観測されるた め,混同されやすい.

本章では、両者の違いを明確に示すため、塩化リチウム(LiCl)水溶液ガラスの圧力誘起緻密化とアモルファス氷のポリアモルフィック転移を比較し、両者の判断基準を提案する.(Suzuki and Mishima (2009))

ガラスの圧力誘起緻密化の特徴を以下にまとめる.

①ステップ状の体積変化は連続的である.

- ②ステップ状の体積変化前後の幾何学的分子配置に大きな差はない。
- ③ステップ状の体積変化の振る舞いは緻密化前のガラ スの状態に大きく依存する.

図 3-a は 11.1 mol%の LiCl 水溶液と LiCl 水溶液ガ ラスを温度一定で加圧した時の体積変化の様子を示して いる.この LiCl 水溶液の 1 気圧 (0.1 MPa) でのガラ ス 転移温度 (T_g) は約 138 K である.138 K 以上の LiCl 水溶液(液体状態)を加圧した時,ある圧力 (P_g) でガラス化することがわかる.一方,138 K 以下 の LiCl 水溶液ガラスを加圧すると、ある圧力付近で 徐々に体積を収縮し始めて、ある圧力でステップ状の緻 密化を示す.この緻密化したガラスを 1 気圧 (0.1 MPa) に減圧しても状態は復元しない(図 3-b).

ステップ状の緻密化の特徴をさらに見るために,図 4-aの右のパネルに77Kで11.1mol%のLiCl水溶液 ガラスを加圧した時の体積変化を示す.この場合,ス テップ状の体積減少は約0.6GPa付近で始まるが,そ の変化は連続的である(①).このステップ状の緻密化 が始まる圧力は温度が低くになるにつれ高圧力側にシフ トすることが図3-aからわかる.図4-aの左のパネル に,1気圧(0.1MPa)におけるLiCl水溶液ガラス (上)と1GPa近くまで加圧して緻密化した後のLiCl 水溶液ガラス(下)のOH伸縮振動モードのラマンス ペクトルを示す.VV ラマンスペクトルの3100 cm⁻¹付 近のモード(OH 全対称伸縮振動モード)は緻密化のた め若干高振動数側に移動するが,スペクトルの外形(外 郭)には大きな変化は見られない.VH ラマンスペクト ルも大きな変化は見られない. この結果は,ステップ状の緻密化が起こる前後の LiCl 水溶液ガラス内の水分子 の幾何学的分子配置が大きく変化していないことを意味 している(②). つまり, LiCl 水溶液ガラスの緻密化の 本質は相転移ではなく「構造緩和」であることを示唆し ている.

次に,我々は77 K で1 GPa まで加圧して緻密化した LiCl 水溶液ガラスを,1気圧(0.1 MPa)で昇温し, 体積が復元する途中で試料を77 K に冷却することで, 体積の異なるガラスを作った.これらの初期状態の異な るガラスのステップ状の緻密化の振る舞いは,図5 に示 すようにそれぞれ異なっている(③).

さらに初期状態のステップ状の緻密化への影響を調べ るため、室温で0.1 GPa に加圧した後、冷却して LiCl 水溶液ガラス作り、その圧力誘起緻密化の様子(図6の 青い曲線)を1気圧(0.1 MPa)で作った LiCl 水溶液 ガラスの結果(図6の赤い曲線)と比較した.両者とも 140 K以上では液体状態であるため、その体積変化はほ ぼ同じ変化を示す.しかし、140 K以下のガラス状態で は、0.1 GPa で作られた LiCl 水溶液ガラスのステップ 状の緻密化は、1気圧(0.1 MPa)で作られた LiCl ガ ラスより高い圧力で起こる.この結果も、ガラスのス テップ状の緻密化がその初期状態に依存していることを 示唆している.

HDA にも①~③に当てはまる緻密化現象が観測される.1気圧の昇温による緩和過程の途中で HDA を冷却 することで、体積が異なる状態の HDA を作った.その 状態の異なる HDA の 77 K での加圧によるステップ状 の緻密化の様子を図 7-a に示す.HDA のステップ状の



図3:11.1 mol%の LiCl 水溶液と LiCl 水溶液ガラスの圧力による等温体積変化. 縦軸は比体積を 表す.(a)1気圧(0.1 MPa)から1.0 GPaまでの加圧による体積変化.(b)1.0 GPaから1気圧 (0.1 MPa)までの減圧による体積変化. *T_g*(~138 K)は1気圧(0.1 MPa)でのガラス転移温 度.*P_g*(~0.63 GPa)は170 K でのガラス転移圧力.

Fig.3 : The pressure-temperature-volume surfaces of 11.1mol% LiCl aqueous solution and glassy LiCl aqueous solution during compression (a) and during decompression (b). Broken lines stand for the glass transition temperature ($T_g \sim 138$ K) at 1 atm and the glass transition pressure ($P_g \sim 0.63$ GPa) at 170K.



図4: 圧力誘起緻密化とポリアモルフィック転移の比較. (a) 77 K における 11.1 mol%の LiCl 水溶液ガラスの圧力誘 起緻密化(右図)と1気圧(0.1 MPa)における LiCl 水溶 液ガラス(緻密化前)と1 GPa まで加圧して緻密化した後 の LiCl 水溶液ガラスの OH 伸縮振動モードの偏光ラマンス ペクトル(左図).赤のラマンスペクトルは入射光の偏光方 向に対して並行方向に偏光した散乱スペクトル (VV),青 のスペクトルは垂直方向に偏光した散乱スペクトル(VH) を示す. ラマンスペクトルは全て1気圧,35Kで測定され た.(b)加圧による LDA のポリアモルフィック転移(右図) と転移前後の OH 伸縮振動モードの偏光ラマンスペクトル (左図). LDA が 77 K で 1.5 GPa まで加圧され(右図の赤 線),そのあと 77 K で1気圧(0.1 MPa)に減圧された(右 図の青). 左図にポリアモルフィック転移前の LDA と転移 後の HDA の OH 伸縮振動モードの偏光ラマンスペクトルを 示す. HDA の加圧時と減圧時での比体積のずれはピストン とシリンダー間の摩擦の影響である.

Fig.4: Comparison between the pressure-induced densification of glassy LiCl aqueous solution and the polyamorphic transition of amorphous ice. (a) The P-Vcurves of glassy LiCl aqueous solution of 11.1 mol% at 77 K (right column) and the polarized Raman spectra of the OH-stretching vibrational mode for the glassy LiCl aqueous solution before and after the densification (left column). The polarized (VV) Raman spectra and the depolarized (VH) Raman spectra are drawn by red and blue, respectively. All the Raman spectra are recorded at 35 K. (b) The P-V curves of amorphous ices (right column) and the polarized Raman spectra of the OH-stretching vibrational mode for amorphous ices before and after the polyamorphic transition (left column). The difference between the $P \cdot V$ curve of HDA during compression and during decompression is caused by the friction between a piston and a cylinder.

体積変化は滑らかで連続的であり(①),ステップ状の 緻密化が始まる圧力は初期状態に依存している(③)こ とがわかる.また,1気圧(0.1 MPa)における HDA と1GPa 近くまで加圧して緻密化した HDA のラマン



図5:初期状態が異なる LiCl 水溶液ガラスの圧力誘起緻密 化.

Fig.5 : Pressure-induced densification of glassy LiCl aqueous solutions which are under the different initial state.

スペクトルの外形には極端な変化がなく,ステップ状の 緻密化が起こる前後で,水分子の幾何学的配置に大きな 変化がないこと(②)が確認された.(Suzuki and Mishima (2009), Suzuki and Tominaga (2010)) このよう に, HDA にも,構造緩和に関係した緻密化現象が存在 する.

次に,LDA-HDA 転移のようなポリアモルフィック 転移の特徴を以下にまとめる.

①ステップ状の体積変化は不連続である.

②転移前後の幾何学的分子配置が大きく異なる.

③転移圧力はガラスの状態にほとんど依存しない.

図 4-b に LDA を 77 K で加圧した時の LDA-HDA ポ リアモルフィック転移を示す. LDA は約0.7 GPa で HDA に転移する.この時の転移は不連続な体積変化を 示す(①).図4-bに示すようにLDAとHDAのラマ ンスペクトルは全く異なる形をし、このスペクトルの外 形はポリアモルフィック転移時に劇的に変わる.(Mishima and Suzuki (2002)) これは、ポリアモルフィック 転移時に水分子の幾何学的な配置が急激に変化している ことを示している(2).次に,HDAを1気圧(0.1 MPa) で昇温し, HDA の一部が LDA に転移した試料 を冷却し、77 K で加圧した時の体積変化の様子を調べ た.図7-bに示すように、不連続な体積変化転移がほ とんど同じ圧力 (~0.7 GPa) で起こった. これは, LDA-HDA ポリアモルフィック転移は LDA の初期状態 にほとんど影響されないことを示している(③).ちな みに,図7-bの転移後で見られるなだらかな体積変化 は LDA に転移していない一部の HDA の緻密化の影響 と考えられる. これらの結果からポリアモルフィック転 移は先に述べた構造緩和に関連したステップ状の緻密化 とは異なり、ある相から別の相への相転移現象であると いえる.

以上の結果から, 圧力誘起緻密化にみられるステップ



図6:1気圧(0.1 MPa)(赤)および0.1 GPa(青)の圧 力下で急冷して作った LiCl 水溶液ガラスの圧力誘起緻密化 の比較.

Fig.6: Comparison between the pressure-induced densification of glassy LiCl aqueous solution which is made by cooling at 0.1 GPa (blue) and the densifications of glassy LiCl aqueous solution which is made by cooling at 1 atm (red).

状の緻密化は構造緩和現象であり、一方、ポリアモル フィック転移は"一次"の相転移現象に分類できる.そ して、両者は本質的に異なる現象であるといえる.上記 の比較から、ガラス状態の物質のポリアモルフィック転 移を実験的に判断する時は、そのガラス物質の大きな体 積変化の不連続性を示すだけではなく、転移前後の状態 (相)の明確な違いを同時に示すことが必要であるだろ う.

5. 昇温によるアモルファス氷の構造緩和

通常のガラスは液体を冷却して作られるため,乱れた 状態は比較的均質である.しかし,HDAは,前述した ように,結晶氷 Ih の低温での圧力誘起アモルファス化 等によって作られる.そのため,乱れた状態の不均質性 (例えば,応力,密度,分子間の結合の強さなどの不均 一性)が存在する.これらの不均質性は高い温度でア ニールすることによって緩和し,比較的均質なガラス状 態になることが知られている.(Nelmes et al. (2006), Suzuki and Tominaga (2010), Winkel et al. (2011),



図7: HDA の圧力誘起緻密化と LDA を含んだ HDA のポ リアモルフィック転移.(a)初期状態が異なる HDA の圧力誘 起緻密化.(b) LDA を一部含んだ HDA の圧力による体積変 化.(a)の 0.5 GPa 付近と 0.8 付近の *P-V* 曲線の途切れと, (b)の 0.6 GPa 付近の *P-V* 曲線の途切れは,測定時のエラー である.

Fig.7: The pressure-induced densification of HDA and the polyamorphic transition of HDA including LDA partially. (a) The pressure-induced densification of HDAs with different states. (b) the polyamorphic transition of HDA including LDA partially. The gaps around 0.5 GPa (and 0.8 GPa) in the *P*-*V* curves of (a) and the gaps around 0.6 GPa in the *P*-*V* curves of (b) are caused by measurement errors.

Koza et al. (2007))

昇温による HDA の均質化は偏光ラマンスペクトルの 3100 cm⁻¹ 付近の OH 全対称伸縮振動モード(以後 g₁ モード) に顕著に表れる.(Suzuki and Tominaga (2010)) 図 8 に,77 K の氷 Ih の圧力誘起アモルファス 化で作ったままの「アニールしていない HDA (unannealed HDA:uHDA)」と uHDA を 1.5 GPa と 0.2 GPa でアニールした HDA の偏光ラマンスペクトル (VV:左,VH:右)を示す.VV スペクトルの各モー ドの中心周波数は密度差による若干の違いはあるが,3 つの HDA の VV スペクトルの外形はどれも似ている. しかし,uHDA の VH ラマンスペクトルはアニールさ れた HDA の VH スペクトルとは異なり,比較的大き



図8: アニールされた HDA の偏光ラマンスペクトル. (a)アニールされていない HDA. (b) 1.5 GPa で アニールされた HDA. (c) 0.2 GPa でアニールされた HDA. 左に VV ラマンスペクトル,右に VH ラ マンスペクトルを示す. これらのスペクトルは 3 つのガウス関数 (グレー), g₁, g₂, g₃ の線形結合に よって再現 (青のスペクトル) された. 全てのスペクトルは 1 気圧, 35 K で観測された. **Fig.8**: The polarized Raman spectra of the annealed HDA. (a) the un-annealed HDA. (b) the 1.5 GPa-relaxed HDA. (c) the 0.2 GPa-relaxed HDA. The VV Raman spectra are shown in the left column and the VH Raman spectra are shown in the right column. Blue spectra are results expressed by a linear combination of three Gaussian functions (g₁, g₂ and g₃).

なg₁モードが存在する.通常,水(液体)や水溶液ガ ラスのような等方的,且つ,均質に乱れた状態のOH 全対称伸縮振動モードは,その振動の高い対称性のため にVHに偏光されたモードは極端に小さくなる. uHDAのVHラマンスペクトルに比較的大きなg₁モー ドが存在することは,uHDA内の分子配置の乱れ方が 不均質であることを示唆している.つまり,密度やスト レスの偏りが存在することを示唆している.そして, uHDAがアニールされたことで乱れ方の不均質性が緩 和し,均質になったと考えられる.このアニールによる uHDAの構造緩和の傾向は,中性子散乱実験やX線回 折実験,熱測定などでも観測されている.(Nelmes et al. (2006), Winkel et al. (2011), Koza et al. (2007))

以上のことから,結晶化する直前の温度で十分にア ニールされた HDA の状態は,十分に緩和した状態と考 えてもよいのかもしれない.いま,1気圧(0.1 MPa) から1.5 GPa の圧力領域で128 K と140 K でアニール された HDA の比体積をプロットした(図 9).0.3 GPaより低い圧力領域では HDA は140 K 以上で結晶 化もしくは LDA に転移するため,0.3 GPa 以上の圧力 領域の結果をプロットした.1気圧付近での圧力変化に よる体積変化は高圧側に比べて大きいが,緩和した HDA の比体積の変化は圧力の変化に対して滑らかであ



図 9: 十分に緩和した HDA の圧力-比体積曲線.赤は 128 K でアニールされた HDA の P-V 曲線.青は 140 K でアニー ルされた HDA の P-V 曲線.

Fig.9: The $P \cdot V$ curves of the well-relaxed HDA. The volume changes of HDA relaxed at 128K and at 140K are shown by red and blue circles, respectively. A solid curve is drawn to guide eye.

り,報告されているような VHDA (very-high-density amorphous ice)の存在を示す不連続な折れ曲がり (Salzmann et al. (2006))は見当たらない.つまり,こ の圧力領域(1気圧(0.1MPa)から1.5GPa)の HDAの体積変化の連続性は,高圧側の高密度な HDA と低圧側の低密度な HDA は同じ HDA のカテゴリー (同じ HDA の相) に属していることを示唆している. (Suzuki and Mishima (2009); Suzuki and Tominaga (2010), Giovambattista (2005))

一方で,LDAは,HDAほど大きな緩和を示さないが、アニールにより構造緩和を引きおこすことが確認されている.(Suzuki and Mishima (2003),Koza et al. (2006))また、十分に緩和したLDAが氷Icに結晶化する時、結晶化の途中でLDAと結晶Icが共存することも観測されている.(Suzuki and Mishima (2003))つまり、LDAは結晶氷Icとは別の(準)安定相として存在していると考えられる.

6. エネルギーランドスケープによる解釈

ガラスの状態変化を理解するために、しばしばエネル ギーランドスケープの描像が利用される.(Stillinger (1995); Angell (1995)) この描像はガラスの状態や動的 変化を直観的,且つ視覚的に理解するには便利である が,厳密にエネルギーランドスケープの形を計算するこ とは非常に難しい.今,図10で示すように,縦軸をポ



Configuration coordinate

図10:一般的なガラスのエネルギーランドスケープ描像. 液体状態(温度が高い時)では,ローカルミニマムの形の影 響を受けない.ガラス転移温度以下の低温のガラス状態で は,ローカールポテンシャルにトラップされる.

Fig.10 : Simplified description of the potential energy surface of general glass. In the case of liquid state at high temperatures, the state is not almost affected by a feature of the potential energy surface. In the case of glassy state at low temperatures, the state is trapped in local minimum in the bottom of basin.

テンシャルエネルギー, 横軸を状態を特徴づけるパラ メータ(例えば, 密度, 分子配置など)とした時, ガラ ス状態のエネルギーランドスケープは大きな鉢状の窪み (ベイスン:basin)とそれを構成する様々な状態のロー カルミニマムの集合で模式的に表現される.また, 圧力 などの外場の影響はエネルギーランドスケープの形状 (ベイスンの形状やローカルミニマムの形状)の変化と して現れる.図10の場合,高温の液体状態はローカル ミニマムにトラップされることなく様々な状態を連続的 に取ることが許される.一方で,低温のガラス状態は, 様々なローカルミニマムにトラップされた状態を取るよ うになる.

エネルギーランドスケープによる2つのアモルファス 氷の解釈は,図11に示すようにLDAとHDAに対応 した2つのメガベイスン (mega-basin)によって特徴 づけられる.(Stillinger (1995); Angell (1995); Loerting et al. (2011))図11の場合,LDAは左側のメガベイス ンにトラップされたガラス状態であり,HDAは右側の メガベイスンにトラップされたガラス状態と考えること ができる.LDA-HDA間の不連続な転移(ポリアモル フィック転移)は2つのメガベイスン間の遷移として説



図11:アモルファス氷のエネルギーランドスケープ描像. 2つのアモルファス氷,LDAとHDA,は2つの大きな鉢 状の窪み(mega-basin)で特徴づけられる.ポリアモル フィック転移はLDAのメガベイスンとHDAのメガベイス ン間の遷移によって説明される.HDAの構造緩和はHDA のメガベイスン内のローカルポテンシャル間の遷移で説明さ れる.

Fig.11: Simplified description of the potential energy surface of amorphous ices. The LDA state and HDA state are characterized by two mega-basins. The polyamorphic transition is explained by a transition between the LDA mega-basin and the HDA mega-basin. The structural relaxation of HDA is explained by the transition between local minimums which exist in the HDA mega-basin.

明される.結果として,遷移による状態の変化量は非常 に大きく,不連続な体積変化として観測される.一方, アモルファス氷の構造緩和はメガベイスン内のローカル ミニマム間での遷移で説明される.つまり、同じメガベ イスン内での状態変化であり、遷移による状態の変化量 は小さい.従って、その体積変化は見掛け上連続的な変 化として観測される.さらに、5章で示したようなア ニールによる HDA の均質化は,構造緩和によりメガベ イスン内の特定のローカルポテンシャルに状態が集約さ れることで説明できるだろう.また,ローカルミニマム 間の遷移の確率はローカルミニマムの形状や位置に依存 すると考えられるので、トラップされたローカルミニマ ムの位置によって構造緩和の振る舞いが異なることが推 測される.つまり、ガラスの初期状態が異なると構造緩 和の振る舞いも異なり、ガラスの緻密化に関する実験結 果(4章)を都合よく説明することができる.

エネルギーランドスケープの考え方では、LDAと HDA以外にも第3,第4のアモルファス氷が存在して もよい. (Loerting et al. (2011))現在実験的に測定さ れていない極低温領域や超高圧力領域に、新たなメガベ イスンが存在し、新たな水のアモルファス状態が存在し ても不思議ではない.しかし、現時点では、4章で定義 したポリアモルフィック転移の条件を満たすような新し いアモルファス氷の存在は実験的に確認されていない. (Suzuki and Mishima (2009); Suzuki and Tominaga (2010))

7. 謝辞

本研究は物質・材料研究機構の三島修フェローおよ び,お茶の水女子大学の冨永靖徳教授(現名誉教授)と の共同研究が中心になっています.三島氏には本稿を精 読していただきましたことに感謝しております.

8. 参考文献

- Angell C. A. (1995) Formation of glasses from liquids and biopolymers. *Science* 267, 1924–1935.
- Bridgman, P. W., and I. Simon (1953) Effects of very high pressures on glass. J. Appl. Phys. 24, 405-413.
- Brüggeller, P., and E. Mayer (1980) Complete vitrification in pure liquid water and dilute aqueous solutions. *Nature* (*London*) 288, 569–571.
- Burton, E. F., and W. F. Oliver (1935) The crystal structure of ice at low temperatures. *Proc. R. Soc. Lond. A* **135**, 166–172.
- Cuthbertson, M. J., and P. H. Poole (2011) Mixturelike behavior near a liquid-liquid phase transition in simulations of supercooled water. *Phys. Rev. Lett.* **106**, 115706.
- Debenedetti, P. G. (2003) Supercooled and glassy water. J. Phys. Condens. Matter 15, R1669-R1726.

- Ediger, M. D., C. A. Angell and S. R. Nagel (1996) Supercooled liquids and glasses. J. Phys. Chem. 100, 13200– 13212.
- Giovambattista, N., H. E. Stanley and F. Sciortino (2005) Relation between the high density phase and the veryhigh density phase of amorphous solid water. *Phys. Rev. Lett.* **94**, 107803.
- Holten, V., C. E. Bertrand, M. A. Anisimov, and J. V. Sengers (2012) Thermodynamics of supercooled water. J. Chem. Phys. 136, 094507.
- Koza, M. M., T. Hansen, R. P. May and H. Schober (2006) Link between the diversity, heterogeneity and kinetic properties of amorphous ice structure. *J. Non-Cryst. Solids* 352, 4988-4993.
- Koza, M. M., R. P. May and H. Schober (2007) On the heterogeneous character of water's amorphous polymorphism. J. Appl. Cryst. 40, s517–s521.
- Loerting, T., K. Winkel, M. Seidl, M. Bauer, C. Mitterdorfer, P. H. Handle, C. G. Salzmann, E. Mayer, J. L. Finney and D. T. Bowron (2011) How many amorphous ices are there? *Phys. Chem. Chem. Phys.* 13, 8783–8794.
- Mackenzie, J. D., and R. P. Laforce (1963) High-pressure densification of glass and the effects of shear. *Nature* (London) 197, 480-481.
- Mishima, O., L. D. Calvert and E. Whalley (1984) 'Melting' ice I at 77K and 10 kbar: a new method of making amorphous solids. *Nature (London)* **310**, 393-395.
- Mishima, O., L. D. Calvert and E. Whalley (1985) An apparently first-order transition between two amorphous phases of ice induced by pressure. *Nature (London)* **314**, 76–78.
- Mishima, O. (1994) Reversible first-order transition between two H₂O amorphs at \sim 0.2 GPa and \sim 135 K. J. Chem. Phys. **100**, 5910–5912.
- Mishima, O., and H. E. Stanley (1998) The relationship between liquid, supercooled and glassy water. *Nature* (London) 396, 329-335.
- Mishima, O. and Y. Suzuki (2002) Propagation of the polyamorphic transition of ice and the liquid-liquid critical point. *Nature (London)* **419**, 599-603.
- Mishima, O. (2010) Volume of supercooled water under pressure and the liquid-liquid critical point. *J. Chem. Phys.* **133**, 144503.
- Murata, K., and H. Tanaka (2012) Liquid-liquid transition without macroscopic phase separation in a waterglycerol mixture. *Nature Materials* **11**, 436-443.
- 直木基祐(1999) ガラス状態と二つのタイプのアモルファス 多形. 高圧力の科学と技術 9, 109-116.
- Nelmes, R. J., J. S. Loveday, T. Strässel, C. L. Bull, M. Guthrie, G. Namel and S. Klotz (2006) Annealed highdensity amorphous ice under pressure. *Nature Physics* 2, 414-418.
- Poole, P. H., F. Sciortino, U. Essmann and H. E. Stanley (1992) Phase behavior of metastable water. *Nature (London)* 360, 324–328.
- Salzmann, C. G., T. Loerting, S. Klotz, P. W. Mirwald, A. Hallbrucker and E. Mayer (2006) Isobaric annealing of

high-density amorphous ice between 0.3 and 1.9 GPa: *in situ* density values and structural changes. *Phys. Chem. Chem. Phys.* 8, 386–397.

- Stillinger, F. H. (1995) A topographic view of supercooled liquids and glass formation. *Science* 267, 1935–1939.
- Suzuki, Y. and O. Mishima (2003) Raman study of the annealing effect of low-density glassy waters. J. Phys. Soc. Jpn. 72, 3128–3131.
- Suzuki, Y. and O. Mishima (2009) Differences between pressure-induced densification of LiCl-H₂O glass and

polyamorphic transition of H_2O . J. Phys. Condens. Matter 21, 155105.

- Suzuki, Y. and Y. Tominaga (2010) Polarized Raman spectroscopic study of relaxed high density amorphous ices under pressure. *J. Chem. Phys.* **133**, 164508.
- Winkel, K., E. Mayer and T. Loerting (2011) Equilibrated high-density amorphous ice and its first-order transition to the low-density form. *J. Phys. Chem. B* **115**, 14141– 14148.

氷高圧相におけるプロトンダイナミクス

飯高 敏晃

2012年10月25日受付, 2013年1月5日受理

氷Ⅲ相における水素原子の運動(プロトンダイナミクス)に対する圧力効果を非平衡熱力学モデル により考察した.室温下で氷Ⅲ相を加圧すると圧力10GPa付近で特徴的なピークが電気伝導率に生 じることが示された.このピークは、氷Ⅲ相が「プラスティック状態」から「結晶状態」へ遷移する さいに発生するものと考えられる.このことは、プロトン運動が10GPa付近で非常に活発になって いることを意味し、氷Ⅲ相中のプロトン化学に大きな影響を与えると考えられる.

Proton dynamics in high pressure ice

Toshiaki Iitaka

Proton dynamics in ice VII under pressure was studied by means of non-equilibrium thermodynamic modeling. It was shown that a characteristic peak will appear in proton conductivity when ice VII transits from 'plastic state' to 'solid state' at around 10GPa under compression at room temperature. The characteristic peak of conductivity implies highly active motion of protons, which may affect proton chemistry in ice VII.

1. はじめに

高圧力下にある氷の物理的化学的性質を研究すること は、木星や土星の氷衛星、天王星、海王星、ある種の系 外惑星などの氷で構成される天体の構造、形成、進化を 理解するうえで大変重要である^[1]. Cavazzoniら^[2]は、 H₂Oの液体相と固体相に挟まれた高温高圧領域(P>20 GPaかつT>2000 K)に超イオン伝導相が存在するこ とを理論的に予測した.超イオン伝導相では酸素原子が bcc 格子点上に存在し、その酸素原子の間を水素原子が 自由に動き回るため高い電気伝導率を示す.超イオン伝 導相の低温側にある固体相(氷ण相)は広い温度圧力範 囲で安定であり^[3,4]、水素結合系に対する温度圧力効果 を研究するためのモデル系としても最適である.本稿で は、この氷ण相における水素原子の運動(プロトンダイ ナミクス)に対する圧力効果を考察する.

H₂Oの低圧相(氷 Ih 相)でのプロトン運動は,電気 的方法^[5,6],光学的方法^[7],そして中性子散乱^[8]によっ て何十年にもわたって研究されてきた.氷 Ih 相におけ

理化学研究所 RIKEN, Japan e-mail: tiitaka@riken.jp URL: http://www.iitaka.org/ るプロトン伝導の理論は,幾人かの研究者らによって確 立されている^[9-11]が,その理論の含意が実験的に十分 に検証されているとは言えない.これまでのプロトン伝 導の研究においては,純粋な氷に対する制御可能な外部 パラメータはおもに温度のみであった.圧力効果につい てはごく僅かの研究^[12-15]があるのみである.したがっ て,氷II相での圧力効果を理論的実験的に詳しく研究す ることにより氷中でのプロトン運動に対する理解が飛躍 的に深まることが期待される.

氷 Π 相におけるプロトン運動に関する実験はごく少数 しか行われていないが,それらの結果は謎を含んでい る.Zheng ら^[14] は, 圧力 0.21 GPa から 4.18 GPa まで の水と氷の電気伝導率を測定して,氷 Π 相では電気伝導 率が 1 GPa で 10⁻⁵S/m から 2 GPa で 10⁻⁶S/m まで減 少するが,氷 Π 相に入ると指数関数的に増加し4 GPa で 10⁻⁵S/m に達することを見いだした.Katohら^[16] は,温度 400 K で圧力 10 GPa から 63 GPa までの氷 Π 相のプロトン拡散係数を赤外反射スペクトルを用いて測 定し,拡散係数が 10 GPa で の 10⁻¹⁵ (m²/s) から 63 GPa での 10⁻¹⁷ (m²/s) まで加圧とともに指数関数的に 減少することを見いだした.10 GPa における拡散係数 10⁻¹⁵ (m²/s) は,Einsteinの関係式(1)を用いれば電気伝 導率 10⁻⁵ (S/m) に相当し,Zhengらの値と調和的であ る.しかし,氷 Π 相での電気伝導率の圧力依存性は, Zheng らは指数関数的<u>増加</u>であるのに対し, Katoh ら は指数関数的<u>減少</u>であり,本質的に矛盾している.本稿 では,氷内のプロトン輸送の非平衡熱力学モデルによ り,この矛盾の謎の解明を試みる.

2. 氷則と欠陥

氷Ⅲ相中のプロトン運動は水素結合ネットワークの基 底状態からの欠陥励起として記述される. 氷におけるプ ロトン伝導(プロトニクス)と半導体における電子伝導 (エレクトロニクス)を対比させて考えよう[17].半導体 の基底状態は充塡した価電子帯と空の伝導帯である、低 温での電子の運動は基底状態からの電子正孔対の励起と して記述される. それに対して, 氷の基底状態は氷則 (Ice Rules)^[1,18]を満たす水素結合ネットワークである. 氷則とは(I)酸素原子の近くには2個の水素原子があ る(水分子の条件),(II)一つの水素結合には一つだけ 水素原子が存在する、という規則である.低温でのプロ トン運動は基底状態からの欠陥対の励起として記述でき る. 一種類の対励起(電子正孔対励起)しかない半導体 と違って、氷には二種類の対励起がある. すなわち、イ オン励起(H₃O⁺とOH⁻)および回転励起(L欠陥とD 欠陥)である[1].水素結合に沿ってプロトンが一つの水 分子からその隣の水分子へ移動して氷則(I)が破られ ると分子が帯電した一対のイオン欠陥、すなわち H₃O⁺ とOH⁻が形成される.水分子が回転して氷則(II)が 破られるとボンドが帯電した一対の回転欠陥、すなわち L欠陥(水素原子が0個の結合)とD欠陥(水素原子が 2個の結合)が形成される.外部から電場をかけると、 これらの欠陥の輸送により氷中を電流(プロトン流)が 流れるのである.

3. 非平衡熱力学モデル

水中での電気伝導理論^[9-11]を半導体中での電気伝導 理論と比較しながら見てみよう.電荷キャリア α によ る電気伝導率 σ_{α} は拡散係数 D_{α} と Einstein の関係式

$$\sigma_{\alpha} = e_{\alpha} n_{\alpha} \mu_{\alpha} = \frac{e_{\alpha}^2 n_{\alpha} D_{\alpha}}{k_B T} \tag{1}$$

によって結びつけられている. ここで e_a , $n_a \ge \mu_a$ はそ れぞれ電荷キャリア a の電荷,数密度および移動度で ある.電荷キャリアの種類aは半導体の場合電子と正孔 (a=e, a=h) であるが,氷の場合は正負のイオン欠陥 ($a=\pm$) および二種類の回転欠陥 (a=DL) である. ここで,欠陥の数密度と拡散係数が Arrhenius 型の関 係式

$$n_{\alpha} = n_{\alpha}^{0} \exp[-\beta E_{\alpha}^{f}]$$

$$D_{\alpha} = D_{\alpha}^{0} \exp[-\beta E_{\alpha}^{t}].$$
(2)

を満たすと仮定しよう. ここで $\beta=1/k_BT$ は逆温度,

Eⁱ と *Eⁱ* は欠陥対の生成自由エネルギーと拡散の活性 化エネルギーである.式(1)に式(2)を代入すれば,電気伝 導率も Arrhenius 型の関係式で表される.

$$\sigma_{\alpha} = \frac{e_{\alpha}^2 n_{\alpha}^0 D_{\alpha}^0}{k_B T} \exp[-\beta E_{\alpha}]$$

= $\frac{e_{\alpha}^2 \tilde{\sigma}_{\alpha}^0}{k_B T} \exp[-\beta E_{\alpha}(P)],$ (3)

ここで, $E_{\alpha}(P) = E_{\alpha}^{d}(P) + E_{\alpha}^{d}(P)$ は圧力 P における電気 伝導率の活性化エネルギーであり, $\tilde{\sigma}_{\alpha}^{0} = n_{\alpha}^{0} D_{\alpha}^{0}$ は次元 (time×length)⁻¹を持った定数である.

氷の電気伝導率 σ_p はイオン欠陥の伝導率 σ_{\pm} および 回転欠陥の伝導率 σ_{DL} で表される^[9–11].高周波極限では 各タイプの欠陥が独立に運動するので電気伝導率は各欠 陥からの寄与の和になる.これは各欠陥による伝導体が 並列に繋がっているとモデル化できる.

 $\sigma_p(\omega = \infty) = \sigma_{\pm}(\omega = \infty) + \sigma_{DL}(\omega = \infty)$. (4) 直流極限では,各欠陥の伝導は氷則の制約により強く相 関しており,プロトンが伝導するためにはイオン欠陥と 回転欠陥の両方の存在が必要である^[1,9,11,19]. その結果, 電気伝導率は各欠陥による伝導体が直列に繋がっている とモデル化できる.

$$\frac{e^2}{\sigma_p} = \frac{e_{\pm}^2}{\sigma_{\pm}} + \frac{e_{DL}^2}{\sigma_{DL}} \tag{5}.$$

式(3)を式(5)の右辺に代入すれば、電気伝導率は次式のように表される.

$$\sigma_{p} = \frac{e^{2} \left[\widetilde{\sigma_{\pm}^{0} \sigma_{DL}^{0}} \exp\left[-\frac{\beta}{2} (E_{\pm}(P) + E_{DL}(P)) \right] \right] \\ \times \operatorname{sech}\left[\frac{\beta}{2} (E_{\pm}(P) - E_{DL}(P)) - \ln\left(\sqrt{\frac{\widetilde{\sigma_{\pm}^{0}}}{\widetilde{\sigma_{DL}^{0}}}}\right) \right]$$
(6)

ここで各欠陥の活性化エネルギーの圧力依存性を $E_a(P)$ = E_{a0} + $\gamma_a P$ と近似しよう.ここで、係数 γ_a は欠陥aの活性化体積と呼ばれる.イオン欠陥の活性化体積は負 になる($\gamma_{\pm} < 0$).これは、水素結合内のプロトンに対 するポテンシャルにおける二つの極小間の障壁が加圧と ともに低くなるためである.それに対して、回転欠陥の 活性化体積は正になる($\gamma_{DL} > 0$).これは、加圧ととも に水素結合が強くなるためである.氷町相の圧力範囲 2 GPa~50 GPa における赤外吸収分光測定^[20]によれば、 加圧により OH 伸縮モードの振動数 $v_{l,3}$ は減少し、回転 モードの振動数 v_R は増加する.このことは上記のイオ ン欠陥と回転欠陥の活性化体積の圧力依存性と整合的で ある.電気伝導率の圧力依存性におけるピークの形は式 (6)中の hyperbolic secant 関数によって決まる.ピーク 圧力は、

$$\frac{d\sigma_{P}(P)}{dP} = 0 \tag{7}$$

と置くことにより次式で与えられる.

$$P_{peak} = \frac{1}{\gamma_{DL} - \gamma_{\pm}} \left[k_B T \ln \left(\frac{-\gamma_{\pm} \tilde{\sigma}_{DL}^0}{\gamma_{DL} \tilde{\sigma}_{\pm}^0} \right) - (E_{DL}^0 - E_{\pm}^0) \right]$$
(8)

すなわち, 電気伝導率の圧力依存性にピークが存在する ための条件は $\gamma_{\pm}\gamma_{DL} < 0$ であり, そうでない場合には式 (7)を満たすピーク圧力は存在しない.また、ピーク圧力 が正になるための条件は、6個のパラメータと温度が式 (8)において Ppeak >0 を満たすことである. ピーク時の 電気伝導率は、式(8)を式(6)に代入することにより得られ る、氷WI相の低圧領域(P=2GPa~4GPa)での既存 の実験結果[14,21] に式(3)をフィットすると、このモデル に必要な6個のパラメータは $E_{DL}^{0}=0.446(\text{eV}), E_{\pm}^{0}=$ 0.546(eV), $\gamma_{DL} = 2.59 \times 10^{-2} (eV/GPa)$, $\gamma_{+} = -7.84 \times 10^{-2} (eV/GPa)$ 10⁻³(eV/GPa), $\tilde{\sigma}_{DL}^{0} = 5.98 \times 10^{23} (s^{-1} \text{ m}^{-1})$ そして $\tilde{\sigma}_{\pm}^{0} =$ 6.89×10¹⁹(s⁻¹m⁻¹)となる. このとき P_{peak} は約 10 GPa である.図1は、このパラメータと式(6)を用いて計算し た室温での電気伝導率の圧力依存性を示す. 図1および 式(5)より電気伝導率は二種類の欠陥伝導率の小さい方で 近似され、その結果電気伝導率の活性化エネルギーは二 種類の欠陥伝導率の活性化エネルギーの大きい方で近似 されることがわかる.相図中での低圧領域(「プラス ティック状態」)と高圧領域(「結晶状態」)の境界はP $=P_{peak}(T)$ で与えられ、境界の傾きは、

$$\frac{dP_{peak}(T)}{dT} = \frac{k_B}{\gamma_{DL} - \gamma_{\pm}} \ln\left(\frac{-\gamma_{\pm}\tilde{\sigma}_{DL}^0}{\gamma_{DL}\tilde{\sigma}_{\pm}^0}\right)$$
(9)
$$\geq \zeta \gamma \mathcal{Y}, \quad \frac{-\gamma_{\pm}}{\gamma_{DL}} > \frac{\tilde{\sigma}_{\pm}^0}{\tilde{\sigma}_{DL}^0} \zeta \mathcal{S} \mathcal{K} \mathbb{E} \mathbb{C} \mathcal{B} \mathcal{S}.$$

4. まとめ

本稿では,氷**Ⅲ**相での電気伝導率に対する圧力効果 を非平衡熱力学モデルにより考察した.モデルによれ ば、氷中の電気伝導率はイオン欠陥伝導率と回転欠陥伝 導率のうちの小さい方で決定されることがわかった.そ の結果、電気伝導率の圧力依存性に関する「謎」は、氷 WI相が約10GPaで「プラスティック状態」から「結晶 状態」へ遷移するにともない電気伝導率が指数関数的<u>増</u>加から指数関数的<u>減少</u>へ転じると考えることで氷解し た.この約10GPaにおけるプロトン運動の活発化は、 岡田らの測定結果^[15]とも整合的であり、氷WI相におけ るプロトン化学に重要な影響を与えると考えられる.こ のような電気伝導率のピークは純粋な氷Ih相では観測 されていない.氷WI相でピークが存在するのは、この相 が広い圧力範囲で安定であることによると言えよう.

これまで議論した「プラスティック状態」と「結晶状 態」は、伝導率が連続的に変化することからも分かるよ うに、熱力学的な意味での「相」ではなく氷 MI相の中の 二つの状態である.しかし、最近、剛体水分子モデルを 用いた分子動力学シミュレーションにより、水分子が BCC 格子点上でぐるぐると回転している熱力学的な 「プラスティック相」の存在が提唱されている^[22,23].こ の場合にも本稿と同様にイオン欠陥と回転欠陥の伝導を 考えることにより「プラスティック相」と「結晶相」の 相境界に電気伝導率のピークあるいは不連続性が生じる はずである.氷の「プラスティック相」がもし本当に存 在するならば、電気伝導率の測定により発見されるかも しれない.

氷の電気伝導率は,多くの場合,<u>交流抵抗測定法</u> (Impedance Spectroscopy)により測定される.交流抵 抗測定法は電極の影響を分離できるほか,電気伝導率に 加えて誘電緩和時間も同時に測定でき,分子の回転など



図1:氷Ⅲ相の室温における電気伝導率の圧力依存性.

Fig. 1 : Electric conductivity of ice VII at room temperature.

に関する動的情報も得られる.そういう意味で氷の各種 低圧相の研究に活用されてきたが^[5,6,10-13],氷高圧相の 研究^[14,15]においても水素結合の動的対称化^[3,4]や「プラ スティック相」^[22,23]の検出,水素結合ネットワークの秩 序・無秩序相転移^[21,24,25]などのプロトンダイナミクスを 研究するうえでX線回折,中性子線回折,光学的測定と 相補的で強力な研究手段となるであろう.

謝辞

本研究は、文科省科研費,新学術領域研究「高温高圧 中性子実験で拓く地球の物質科学」における計画研究 「高圧下における含水鉱物,マグマ,水の量子シミュ レーション」(代表者:飯高敏晃, No.20103005)の支 援を受けて実施された.

参考文献

References

- V. F. Petrenko, and R. W. Whitworth, *Physics of Ice* (Oxford University Press Inc., New York, 1999).
- [2] C. Cavazzoni, G. Chiarotti, S. Scandolo, E. Tosatti, M. Bernasconi, and M. Parrinello, Science 283, 44 (1999).
- [3] E. Sugimura, T. Iitaka, K. Hirose, K. Kawamura, N. Sata, and Y. Ohishi, Phys Rev B 77, 214103 (2008).
- [4] M. Benoit, A. H. Romero, and D. Marx, Phys. Rev. Lett. 89 (2002).
- [5] I. Takei, and N. Maeno, J. Chem. Phys. 81, 6186 (1984).
- [6] I. Takei, and N. Maeno, Journal de Physique 48, 121 (1987).
- [7] A. Uritski, I. Presiado, and D. Huppert, Journal of Physical Chemistry C 112, 11991 (2008).
- [8] I. Presiado, J. Lal, E. Mamontov, A. Kolesnikov, and

D. Huppert, Journal of Physical Chemistry C **115**, 10245 (2011).

- [9] C. Jaccard, Physik der Kondensiterten Materie 3, 99 (1964).
- [10] C. Jaccard, Helvetica Physica Acta 32, 89 (1959).
- [11] M. Hubmann, Zeitschrift fur Physik B-Condensed Matter 32, 127 (1979).
- [12] R. Chan, D. Davidson, and E. Whalley, J. Chem. Phys.43, 2376 (1965).
- [13] M. Hubmann, Journal of Glaciology 21, 161 (1978).
- [14] Zheng Haifei, Xie Hongsen, Xu Yousheng, Song Maoshuang, G. Jie, and Z. Yueming, Chinese Science Bulletin 42, 969 (1997).
- [15] T. Okada, and T. Yagi, in Japan Geoscience Union Meeting 2012 (Japan Geoscience Union http://www2. jpgu.org/meeting/2012/session/S-MP48_e.html, Chiba, Japan, 2012).
- [16] E. Katoh, H. Yamawaki, H. Fujihisa, M. Sakashita, and K. Aoki, Science 295, 1264 (2002).
- [17] M. Eigen, and L. Demaeyer, Proceedings of the Royal Society of London Series A-Mathematical and Physical Sciences 247, 505 (1958).
- [18] J. Bernal, and R. Fowler, J. Chem. Phys. 1, 515 (1933).
- [19] C. Jaccard, Helvetica Physica Acta 32, 89 (1959).
- [20] M. Song, H. Yamawaki, H. Fujihisa, M. Sakashita, and K. Aoki, Phys Rev B 60, 12644 (1999).
- [21] E. Whalley, D. W. Davidson, and J. B. R. Heath, J. Chem. Phys. 45, 3976 (1966).
- [22] Y. Takii, K. Koga, and H. Tanaka, J. Chem. Phys. 128, 204501 (2008).
- [23] J. Aragones, M. Conde, E. Noya, and C. Vega, Phys. Chem. Chem. Phys. 11, 543 (2009).
- [24] C. G. Salzmann, P. G. Radaelli, E. Mayer, and J. L. Finney, Phys. Rev. Lett. 103, 105701 (2009).
- [25] C. G. Salzmann, P. G. Radaelli, B. Slater, and J. L. Finney, Phys. Chem. Chem. Phys. 13, 18468 (2011).

高温高圧水の構造と動的性質

池田 隆司¹⁾,片山 芳則¹⁾

2012年9月4日受付, 2012年11月12日受理

環境に応じて多様な振る舞いを示す水の性質の解明は、長い研究の歴史にもかかわらず、なお物 理、化学、生物の主要な研究課題となっている.本稿ではまず、第一原理分子動力学法に基づく計算 機シミュレーションと放射光X線回折実験を組み合わせることによって見えてきた高温高圧条件下で の水の振る舞いを紹介し、次に今後の展望に触れる.

Structural and dynamical properties of water under high temperatures and pressures

Takashi Ikeda¹, Yoshinori Katayama¹

Although liquid water is one of the most abundant materials on earth and most familiar to all of us, the present understanding of liquid water exhibiting various interesting properties depending on the environment is still far from satisfactory. Hence, it is still one of main subjects in vast research fields including physics, chemistry, and biology. In this contribution, we first describe the structural and dynamical properties of water under high temperatures and pressures revealed by combining advanced first principles molecular dynamics simulations and *in situ* X-ray diffraction experiments. Then, the future prospects for investigating water under higher pressures and temperatures are summarized.

1. はじめに

水は普遍的に存在する液体であり,化学,生物におい てその役割の重要性は計り知れない.液体の水は H₂O という簡単な3原子分子の集合体であり,解析も容易そ うに見えながら,ごく最近の研究においてもなお十分な 理解に至っているという状況ではない.X線回折を用い た構造解析においては,水分子が軽元素のみから構成さ れているためにX線の散乱強度が著しく弱いことが解析 を困難にしている.一方,理論解析においては,水分子 間の相互作用の高精度の見積もりが難しいことが困難の 原因となっている.このことは,1気圧のもとでは水の 融点と沸点はそれぞれ0℃(273 K)と100℃(373 K) であるが,これらの融点と沸点での熱エネルギーの差は 高々0.01 eV に過ぎず,この小さいエネルギースケール で水の性質が大きく変化することを考えれば,容易に理 解できる.

近年,地球深部にも含水鉱物として水が存在し,マグ

マの生成などに水が深く関わっていることがわかってきた.その役割を理解するには、地球深部の条件、すなわち高温高圧条件での水の振る舞いを知ることがまず必要となる.地殻から上部マントルに変わる深さおよそ30kmでは、温度は400°C、圧力は1GPa(1万気圧)に達すると推定されているが、これらの温度・圧力を実験室で再現し、水の回折実験を行うことはこれまで困難であった.

そこで原子力機構の研究チームは、「大型放射光施設 SPring-8」の強力なX線を用いた回折実験(Katayama et al., 2010)と大型計算機を用いた第一原理分子動力学 シミュレーション(Ikeda et al., 2010)を組み合わせる ことにより上記の困難を克服し,温度 850 K,圧力 17 GPa までの水の振る舞いの解明に成功した。

次節以降では、まずシミュレーションと実験の概要に 触れ、次に実験とシミュレーションから明らかになった 高温高圧条件で現れる通常とは異なる水の振る舞いを解 説する.最後に今後の展望について簡単に述べる.

2. 高温高圧下の水

第一原理分子動力学法は,経験パラメータを用いずに

¹⁾日本原子力研究開発機構量子ビーム応用研究部門

¹ Quantum Beam Science Directorate, Japan Atomic Energy Agency, Sayo-gun, Japan



図1:キュービック型マルチアンビルプレスを用いた高温高圧下X線回折実験の原理. プレスの写真を右に示した.

Fig. 1 : Apparatus for high temperature and pressure X-ray diffraction experiment. Schematic view (left) and photograph (right) of the cubic-type multianvil press installed on BL14B1, where the present diffraction experiment was conducted.

系の電子状態を(できる限り)正確に扱いながら各原子 に働く力を計算し,各原子の軌跡の時間発展を求めるシ ミュレーション法である.よって,原理的にはあらゆる 物質の任意の熱力学条件での状態を求めることができ る.しかし,計算負荷が大きく,特に液体の場合には膨 大な計算が必要となる.そこで池田らは水のシミュレー ションに大型計算機を用いた(Ikeda et al., 2010).シ ミュレーションは温度と密度を一定にして行われ,温度 は 300 K から 900 K まで,密度は 1.00 g/cm³ から 1.61 g/cm³ まで系統的に変化させている.

一方,片山らは水のX線回折実験をSPring-8の原子 力機構ビームラインBL14B1および共用ビームライン BL04B1で実施し、シミュレーションが行われたのと同 ーの温度・密度条件を含む1.8g/cm³(17GPa, 850K)までの測定を行った(Katayama et al., 2010). ビームラインBL14B1に設置されている装置の概要を 図1に示す.試料容器として単結晶ダイヤモンドのカッ プと貴金属製のフタを用い、固体圧力媒体を用いて、大 型プレスにより高圧を発生させている.ダイヤモンドの カップは液体が漏れる恐れがなく、X線を透過し、かつ 化学的にも安定であるため液体の試料容器として優れて いる.X線回折には白色X線を用いたエネルギー分散法 を用い、得られた構造因子から動径分布関数を求めた.

実験と計算から得られた動径分布関数の比較を図2に 示す.動径分布関数g_{xy}(r)は粒子Xを中心として距 離rに粒子Yが存在する確率数密度分布で,この関数 から配位数(各粒子に隣接している粒子の数)などの系 の構造の特徴を知ることができる.通常の水,すなわち 常温常圧に近い条件の水では隣接分子間に弱い水素結合 が形成されるために,液体であっても分子配列に固体状 態である氷に類似した短距離秩序が残ることが知られて いる.氷は10以上の異なる結晶構造が発見されている が,1つの水分子に注目すると,これと水素結合した4 つの隣接分子が4面体の頂点に位置する4面体秩序を有



図2: (a)密度1.0 g/cm³ および(b)温度700 K での動径分布 関数.計算と実験から得られた動径分布関数をそれぞれ実線 と破線で示した.X線回折実験からはgoo(r)のみが得ら れる.見やすくするために条件の異なるデータは縦軸を2ず つずらしている.

Fig. 2: Theoretical and experimental radial distribution functions compared. Radial distribution functions $g_{00}(r)$, $g_{0H}(r)$, and $g_{HH}(r)$ for (a) 1.0 g/cm³ and (b) 700 K obtained from our first principles molecular dynamics simulation and *in situ* X-ray diffraction experiment are shown as solid and dashed lines, respectively. For clarity, the vertical axis for data of different temperatures is shifted up.

する点は共通している.この4面体秩序は、図2(a)に 示した 300 K の g_{oo} (r) のそれぞれ 2.8 Å と 4.5 Å に ある第1ピークと第2ピークに、水素結合の存在は gott (r) の1.8 Å にある第2ピークに表れている. 密度を 通常の水と同じ1.0g/cm³に固定し温度を上げていく と、計算と実験で得られた結果はどちらも、 $g_{00}(r)$ の第2ピークが第1ピークに徐々に近づいていき,480 Kではほぼひとつのピークとなることを示している. これは、通常の水では配位数は4くらいであるが、高温 下では12程度まで増大することを意味する.さらに, 温度の上昇につれて goH (r)の第2ピークの強度が急 激に弱くなっていくが、その痕跡は700Kの高温でも 認められる.一方,温度を700Kに固定し密度を増大 させると、分子間相関に由来するピークが動径 r の小 さい側に一様にシフトすることがわかる (図2(b)参 照).興味深いことに、高温高圧状態のgoo(r)は典型 的な単純液体である液体アルゴンの動径分布関数によく 似ている.第一原理分子動力学シミュレーションから得 られた構造を詳細に解析するために次式により秩序変数 *q*を導入する (Errington and Debenedtti, 2001).

$$q = 1 - \frac{3}{8} \sum_{j=1}^{3} \sum_{k=j+1}^{4} \left(\cos \vartheta_{jk} + \frac{1}{3} \right)^2 \tag{1}$$

ここで、 θ_{1k} は中心分子と隣接2分子間のなす角である. この変数は、隣接分子4つが4面体構造をとっていると 1となり無秩序では0となるため、4面体秩序を特徴づ ける秩序変数となっている.シミュレーションから得ら れた変数qの分布を図3に示す.373 Kから480 Kの間 で上記の氷類似の4面体秩序が徐々に壊れていき、700 Kでは完全に壊れることがわかる.したがって、温度 を上げることによって水素結合による4面体秩序を特徴 とする構造から配位数が12程度に増大した高配位構造 に移り変わるが,高温になってもまだ水素結合は残って おり,高配位構造と水素結合がどのようにして両立して いるかが問題になる.

高密度化した高温水をより深く理解するには,水分子の拡散・回転運動の知見を得ることが重要である.図4 (a)にシミュレーションから求めた水分子の回転相関時間の温度と密度に対する依存性を示す.回転相関時間は 分子が向きを変えるのにかかる平均の時間を表わす.シ ミュレーションから得られた回転相関時間は,300 K で はおおむね 10 ps (10⁻¹¹ 秒)であるが,温度を上げてい くとどんどん短くなり,最高温度の900 K では0.1 ps を切るまでになる.この0.1 ps は水分子の分子振動の 周期と同程度であり,水分子が極めて速く回転している ことを示している.また,回転相関時間は温度によって ほぼ決まっており,密度に対する依存性は小さい.これ に対して,水の拡散運動は図4(b)に示したように高温 でも密度に大きく依存しており,圧力を上げることに よって容易に抑制される.

以上の結果を相図にまとめると図5のようになる.常 温常圧付近の水は四面体秩序を特徴とする代表的な水素 結合性液体であるが,温度を上げることによって373 K 付近から配位数が12程度に増大した高配位構造に徐々 に移り変わっていく.この高温水では,通常の水と同程 度の密度であれば水分子が非常に速い分子回転と拡散を 示すが,2倍近い密度にすると,分子の拡散と回転が分 離し,水分子の拡散運動が抑制され分子回転のみが高速 に保たれた状態になる.この分子回転は原子・分子の運



図3:水の配位殻の4面体秩序を特徴づける秩序変数qの分布.液体Ar (T = 150 K, $P \sim 140$ bar) における分布を最上段右のパネルに破線で示した.

Fig. 3 : Distribution of the orientational order parameter q representing the tetrahedrality of the coordination shell. The corresponding distribution for liquid Ar (T = 150 K, $P \sim 140$ bar) is shown as dashed lines in most upper-right panel.



図4:水分子の(a)回転相関時間 τ_{2R} および(b)拡散係数 D の温度依存性.

Fig. 4 : Temperature dependence of (a) rotational correlation time τ_{2R} and (b) diffusion coefficient *D* for water.

動としては極めて高速であるため,あたかも水素結合が 消え単純液体のように振る舞うようになる.さらに高温 高圧にすると水がどのように振る舞うか興味がもたれる が,これについては次節の終わりで簡単に触れる.

3. おわりに

本稿では、第一原理分子動力学法に基づく計算機シ ミュレーションと放射光X線回折実験の相補的な利用に より、水の高温高圧条件での振る舞いがわかるように なってきたことを紹介した。前節にあるように構造およ びダイナミクスの定量的な評価が可能になったことは意 義深い。しかしながら図2をみれば明らかなように、X 線回折実験からは水素に関する情報が得られないため構 造が完全に解明されたとは言い難い。現在、茨城県東海 村にある「大強度陽子加速器施設J-PARC」の「物質・ 生命科学実験施設MLF」に高温高圧実験用の中性子 ビームラインの建設が進められており、2012年末まで には高温高圧実験がいよいよ開始される予定である。J-



図5:水の温度-圧力相図の概略図.水は分子性液体相内に おいて水素結合性液体から単純液体へのクロスオーバーを示 す.

Fig. 5 : Schematic P-T phase digram of water representing the crossover between H-bonded and simple-liquid-like liquids in molecular liquid phase.

PARC での高温高圧中性子実験が可能になれば水素の 情報も得られるようになるので,研究がさらに進むと期 待される.

最後に、さらに高温高圧領域で水がどのように振る舞 うかについて触れよう.第一原理分子動力学力学シミュ レーションにより,より広範囲の温度-圧力領域に関す る水の相図が既に調べられている(Cavazzoni et al., 1999; Mattsson and Desjarlais, 2006).それによると温 度と圧力を上げることによって、イオン性液体相,超イ オン伝導相,金属相などが出現すると予言されている。 このうち超イオン伝導相は、酸素原子が格子を組みその 中を水素原子が高速に拡散する相である.この超イオン 伝導相は、本稿で紹介した加圧による水分子の拡散運動 と回転運動の分離がさらに進み、拡散運動が完全に凍結 された後でも水素原子が高い運動エネルギーを保持する 結果出現すると考えられる.このような未確認の興味深 い現象が高温高圧領域には潜んでいる可能性がある.水 の新たな姿がさらに明らかになることを期待したい.

謝辞

本稿で紹介した研究成果の多くは,科学研究費補助金 新学術領域研究「高温高圧中性子実験で拓く地球の物質 科学」によるものである.

参考文献

Cavazzoni, C., G. L. Chiarotti, S. Scandolo, E. Tosatti, M. Bernasconi, and M. Parrinello (1999) Superionic and Metallic States of Water and Ammonia at Giant Planet Conditions. *Science*, 283, 44-46.

Errington, J. R. and P. G. Debenedtti (2001) Relationship

between structural order and the anomalies of liquid water. *Nature*, **409**, 318-321.

- Ikeda, T., Y. Katayama, H. Saitoh, and K. Aoki (2010) High-temperature water under pressure. J. Chem. Phys., 132, 121102.
- Katayama, Y., T. Hattori, H. Saitoh, T. Ikeda, K. Aoki, H. Fukui, and K. Funakoshi (2010) Structure of liquid water

under high pressure up to 17 GPa. *Phys. Rev. B*, **81**, 014109.

Mattsson, T. R. and M. P. Desjarlais (2006) Phase Diagram and Electrical Conductivity of High Energy-Density Water from Density Functional Theory. *Phys. Rev. Lett.*, 97, 017801.

プラスチック氷の構造とダイナミクス

樋本 和大¹⁾, 松本 正和¹⁾, 田中 秀樹¹⁾

2012年9月9日受付, 2012年12月20日受理

計算機シミュレーションにより氷WIと液体状態の水に挟まれた温度・圧力領域での存在が予測され ている水のプラスチック相(プラスチック氷)について,現在までに明らかとなった構造や水素結合 連結性の特徴およびダイナミクスを紹介する.特に,プラスチック氷の存在を最初に取り上げた論文 について,その発見に至る経緯と同定の根拠,およびプラスチック氷の性質を概観し,その後の進展 について触れる.

Structure and dynamics of plastic ice

Kazuhiro Himoto¹, Masakazu Matsumoto¹, Hideki Tanaka¹

We review the features, which have been thus far revealed, of structural properties, hydrogen-bond connectivity, and dynamics of the plastic phase of water ("plastic ice") predicted to intervene between ice VII and the liquid phase. Given is an overview of the background to its discovery and the foundations to identify the plastic phase. Emphasis is placed on various properties of plastic ice with reference to the paper that first reported the existence of plastic ice. Further development of the studies on plastic ice is also introduced.

シミュレーションが予言する「プラスチック 氷」の存在

水は数+GPaまでの圧力下では分子骨格(OH 結合 長=0.96Å, HOH 角=104.5°)を維持することが知ら れている.約2GPa以上の高圧領域では体心立方 (Body-Centered Cubic; BCC)格子点上に水分子が配 置された,高密度の結晶相氷Ⅲが形成される.氷Ⅶは2 つの独立なダイヤモンド型の水素結合ネットワークが自 己包接した構造であり,プロトン位置が無秩序化した氷 の相のひとつである.氷Ⅶを冷却すると,プロトン秩序 相の氷Ⅷに相転移することが知られている(Asahara et al., 2010; Besson et al., 1994; Song et al., 2003; Umemoto et al., 2010).

氷Ⅲの研究において,とくに興味深く未解決な問題の ひとつが,実験方法による融解曲線の不一致である.そ れぞれの実験では各圧力における融点は圧力の関数とし て表されるが,その融解曲線が実験によって大きく異な る (Bridgman, 1937; Datchi et al., 2000; Fei et al., 1993; Mishima and Endo, 1978; Pistorius et al., 1963). 初期 の実験では体積の変化に注目して氷町の融解を判断し, また比較的最近の研究の多くは目視観測によっている. このように,融解曲線を決定する手法が異なる場合,そ れらを比較してどの実験が最も妥当な融解曲線を与えて いるかを判断することは難しい.一方,氷町の融解曲線 の問題に対し一つの解釈を与えるものとして,瀧井らは 分子動力学 (Molecular Dynamics; MD) シミュレー ションにより,氷町と液体状態の水 (正確には超臨界 水)に挟まれた温度領域で,水のプラスチック相^[#1] 「プラスチック氷」が存在することを予測した (Takii et al., 2008). このプラスチック氷については,後にも 触れるように実験では現在までに確認されたという報告 はないが,シミュレーションでは,構造とダイナミクス

¹⁾ 岡山大学大学院自然科学研究科

 ¹ Graduate School of Natural Science and Technology, Okayama University, Okayama, Japan Tel: 086-251-7769 Fax: 086-251-7769
 e-mail: htanakaa@cc.okayama-u.ac.jp

^[#1] 個々の分子が格子点から拡散することなく自由に回転している,液体と結晶の中間相のひとつである.もうひとつの中間相が液晶相であり,回転運動が抑制されたまま並進運動を行う.液体と結晶の中間相が発現する場合,一般に、分子構造が球形に近いほどプラスチック相が出現し、球形からのずれが大きな分子では液晶が安定な相となりえる.水分子は球形に近いため、プラスチック相が現れることは十分期待される.

および自由エネルギーなどの計算結果から,非常に明確 で議論の余地のない程度にプラスチック氷の存在が示唆 されている.また,その他の実験とシミュレーションの 両者からの状況証拠も考慮すれば,水の相挙動の研究に 新たな展開をもたらす可能性もあり,このプラスチック 氷の存在が予測されている温度圧力領域はこれからも注 目を集めることになるだろう.

結晶である氷と液体の水の分子運動を特徴づける最も 簡単な量として、平均2乗変位

$$C_{\text{MSD}}(t) \equiv \langle |\mathbf{R}_i(t) - \mathbf{R}_i(0)|^2 \rangle \tag{1}$$

と再配向相関関数

 $C_{\rm RC}(t) \equiv \langle \mathbf{u}_i(0) \cdot \mathbf{u}_i(t) \rangle \tag{2}$

が挙げられる. $\mathbf{R}_{i}(t)$ は分子 i の時刻 t における位置座 標, $\mathbf{u}_i(t)$ は分子に固定された単位ベクトルであり、角 括弧はアンサンブル平均を表す.式(1)で定義される平均 2乗変位は拡散的並進運動を表し、事実その傾きの1/6 が自己拡散係数である.また式(2)は分子固定軸(ここで は双極子方向)の向きの相関を表していて、固体では衝 振のため,初期の短時間で相関がやや減衰するが消失せ ず,分子の配向は長時間にわたって維持されることを示 している.液体では、分子の回転のために長時間では分 子配向の相関は失われて0となる.平均2乗変位(図1 a) と分子配向の自己相関(再配向相関関数)(図1b) が示すように、プラスチック氷では、個々の水分子は回 転運動して,長時間では初期の分子配向は失われるが, 酸素原子間の動径分布関数(図 1c)から分かるように BCC 格子点に束縛され振動的な並進運動を行っている (Himoto et al., 2011; Himoto et al., 2012; Takii et al., 2008). 氷Шの融解曲線の不一致の原因が,氷Шと水の 間のプラスチック氷の存在に起因するならば,氷**Ⅲ**から 流体状態へ温度上昇に伴い水が辿る相変化の過程は、プ ロトン位置の無秩序化(氷Ⅲ)に始まり,続いて回転に 関する融解(プラスチック氷),最後に並進に関する融 解(水)と、相挙動はより段階的なものになる(図

2).

プラスチック氷は未だ実験では確認されておらず,そ の詳細な物性は不明のままであり,現時点では計算機シ ミュレーションが物性研究の唯一の手段である.複数の 水分子モデル (TIP5P (Mahoney and Jorgensen, 2000), TIP4P (Jorgensen et al., 1983), TIP4P/2005 (Abascal and Vega, 2005), SPC/E (Berendsen et al., 1987)) でプ ラスチック氷の出現が確認されており,プラスチック氷 が実在する水 (氷)の形態であることが強く期待される (Aragones et al., 2009; Aragones and Vega, 2009; Himoto et al., 2011; Takii et al., 2008).本稿ではシ ミュレーションによりこれまでに明らかとなったプラス チック氷の物性を総説する.

2. 熱力学量の温度変化

周期境界条件を課した立方体セル内の432個の TIP5P 水分子系において、最初に報告された MD 計算 からの熱力学量について、はじめに概観する.氷Ⅲ、プ ラスチック氷,水のポテンシャルエネルギー,密度,エ ンタルピー,そして化学ポテンシャルの温度変化を図3 に示す(圧力は10GPa)(Takii et al., 2008). 化学ポ テンシャル(自由エネルギー)の具体的な計算方法は Appendix で説明する. プラスチック氷と水との間の熱 力学量変化において観測された明瞭なヒステリシスは両 相の間の1次相転移を意味する.一方,プラスチック氷 と氷Ⅲとの間のヒステリシスは観測されていない.しか し、直線で与えられた化学ポテンシャルの目安線の勾配 は、氷₩とプラスチック氷との間で明らかな差異があ り、結晶状態である前者と自由回転相である後者がエン トロピー的に大きく異なることを表している. これにつ いて, 文献 (Takii et al., 2008) では, 氷Ⅲとプラス チック氷との間の転移は1次相転移である可能性が示唆 されている.また Aragones らは,別のモデルを用いた



図1: 圧力 12 GPa における氷虹 (500 K), プラスチック氷 (640 K), 水 (960 K) の(a)平均二乗変 位 (MSD); (b)再配向相関関数 (RCF) $C_{\text{RC}}(t)$; (c)酸素原子間の動径分布関数 $g_{00}(r)$. Fig. 1: (a) Mean square displacement (MSD); (b) reorientational correlation function (RCF) symbolized by $C_{\text{RC}}(t)$; (c) oxygen-oxygen radial distribution function (RDF) symbolized by $g_{00}(r)$ of ice VII (at 500 K), plastic ice (at 640 K), and liquid water (at 960 K) phases at the pressure of 12 GPa.



図2:氷咖,氷咖,プラスチック氷,および水のスナップ ショット.青色の球が酸素原子,水色の球が水素原子.水素 結合は描いていない.

Fig. 2: Pictures of ices VIII and VII, plastic ice, and the supercritical water. Spheres denote oxygen atom (blue) and hydrogen atom (cyan). No hydrogen bond is illustrated.

シミュレーションで,氷™とプラスチック氷の間の熱力 学量のヒステリシスを観測し,1次相転移であると結論 している (Aragones et al., 2009).

相転移温度付近での氷WLとプラスチック氷の間の密度 差は、プラスチック氷と水の間の密度差と同程度であ る.氷WLとプラスチック氷の間のポテンシャルエネル ギー差は、プラスチック氷と水の間のポテンシャルエネ



図3: 圧力 10 GPa における熱力学量の温度変化. (a)密度; (b)ポテンシャルエネルギー;(c)エンタルピー;(d)化学ポテン シャル.

Fig. 3: Thermodynamic quantities against temperature at 10 GPa: (a) density; (b) potential energy; (c) enthalpy; (d) chemical potential.

ルギー差より大きい.氷 Π の水素結合ネットワークがプ ラスチック氷では維持されなくなるためである.またそ のため,氷 Π とプラスチック氷の間の相転移温度付近で のエンタルピー差は、プラスチック氷から水への融解エ ンタルピーより大きくなる.氷 Π とプラスチック氷の間 の相転移温度付近でのエントロピー差もまた、プラス チック氷から水への融解エントロピーより大きくなる (それぞれ12 J mol⁻¹ K⁻¹、5 J mol⁻¹).両エントロピー 差は系の圧力に関係なくほぼ一定の値を保つ.そしてす でに述べた通り、密度差(体積差)は2つの相変化でほぼ 等しいので、*T-p*平面における氷 Π -プラスチック氷の 共存曲線の勾配は、プラスチック氷-水の共存曲線の勾 配より大きい.つまり圧力が低下するにつれて、*T-p*平 面に占めるプラスチック氷の存在領域は狭まってゆく.

化学ポテンシャルの交差点から見積もった,圧力7 GPa,8GPa,10GPaでの氷Ⅲからプラスチック氷への 融点はそれぞれ500K,555K,595Kであり,プラス チック氷から水への融点はそれぞれ610K,710K,780 Kである.これまでに実験から得られたいくつかの氷 Ⅶの融解曲線にこの結果を重ねたものを図4に示す.融 解曲線のばらつきとプラスチック氷が存在する温度範囲 が重なる.すでに述べたように,実験方法により異なっ た転移を観測した可能性もあり,より広範な温度圧力領 域におけるプラスチック氷の存在も念頭においた実験が 待たれる.



図4:これまでに実験により得られていた,各圧力での氷W の融点(□:文献 (Pistorius, et al. 1963),●:文献 (Datchi et al., 2000))と,シミュレーションから得られた,氷W とプラスチック氷および水の存在領域(文献 (Takii et al., 2008))の圧力–温度平面へのプロット.

Fig. 4 : Melting points of ice VII obtained experimentally at various pressures (\Box : Ref. (Pistorius, et al. 1963); \bullet : Ref. (Datchi et al., 2000)). Overlaid are the phase boundaries between ice VII, plastic ice, and the supercritical water obtained by computer simulations at 7, 8, and 10 GPa (Ref. (Takii et al., 2008)).

3. プラスチック氷のエネルギーと構造の特徴

有限温度では、系は複雑なポテンシャルエネルギー地 形の配置空間中を絶えず連続的に移動している.配置空 間の地形の谷底に対応するポテンシャルエネルギー極小 状態「inherent 構造」(Stillinger and Weber, 1983) で は、系全体で分子間力が釣り合うように分子の位置と配 向が最適化され、水素結合性が明確になる(Matsumoto, 2007; Ohmine and Tanaka, 1993; Stillinger and Weber, 1983).本節ではプラスチック氷と氷MDの inherent 構造から明らかとなった、両相の間の分子レ ベルでの構造の違いと水素結合性の特徴について述べる (Himoto et al., 2011).

3.1 プラスチック氷の格子構造

剛体水分子モデル(ここでは TIP5P モデル)では, 水分子間の対相互作用エネルギー関数 ϕ_{ij} は酸素原子間 の Lennard-Jones (LJ) 相互作用エネルギー項 $\phi_{ij}^{(L)}$ と電 荷間の Coulomb 相互作用エネルギー項 $\phi_{ij}^{(Coul)}$ の和で与 えられる(Mahoney and Jorgensen, 2000):

 $\phi_{ij} = \phi_{ij}^{(LJ)} + \phi_{ij}^{(Coul)}$. (3) 系のポテンシャルエネルギーE と,その LJ エネルギー 項 $E^{(LJ)}$ および Coulomb エネルギー項 $E^{(Coul)}$ は,それ ぞれ対応する対相互作用エネルギーのすべての分子対に ついての和とする:

$$E = E^{(LJ)} + E^{(Coul)};$$

$$E^{(LJ)} = \sum_{i < j} \phi_{ij}^{(LJ)}, \quad E^{(Coul)} = \sum_{i < j} \phi_{ij}^{(Coul)}$$
(4)

密度が等しい(1.7699g cm⁻³) プラスチック氷(640 K) と氷Ⅲ(500 K)のそれぞれ100通りのinherent構造の 平均から,両相のポテンシャルエネルギーが比較された (Himoto et al., 2011).表1にプラスチック氷と氷Ⅲの E, E^(L,I)およびE^(Coul)を示す.特徴的なのは,Coulomb項ではなくLJ項が両相の間のポテンシャルエネ ルギー差に大きく寄与していることである.自由回転に よる乱雑配向の影響よりも,それに伴う並進運動の影響 が大きいことを示唆している.このことをより明確にす るために,樋本らはそれぞれの相における分子位置につ いて,完全な BCC 格子点からの変位を調べた.その結 果,変位の分布はGauss型であり,その標準偏差は氷

表1: 圧力は 12 GPa での inherent 構造におけるプラスチック氷 (640 K) と氷 Ⅶ (500 K) のポテンシャルエネルギー とその LJ エネルギー項および Coulomb エネルギー項.

Table 1 : Potential energies and their LJ and Coulombic terms of ice VII (at 500 K) and plastic ice (at 640 K) at 12 GPa.

	Plastic ice	Ice VII
Potential energy / kJ mol ⁻¹	-45.283	-50.751
LJ term / kJ mol ⁻¹	18.181	13.526
Coulombic term / $kJ mol^{-1}$	-63.465	-64.277

 $mo 4.5 \times 10^{-4} nm とプラスチック氷の 2.7 \times 10^{-2} nm と$ では大きく異なる. 同密度の BCC 配置でも,プラスチック氷と氷 mとでは極小エネルギー構造において,分子レベルでの格子構造の差異が大きい. プラスチック氷における 1 分子あたりの大きな平均変位から,プラスチック氷がもつ高い LJ エネルギーを説明できる. 与えられた密度における理想 BCC 格子点の最近接距離0.267 nm では, LJ ポテンシャルは大きな斥力領域にある.もし水分子ペアが,この理想格子点の最近接距離から 2.7 × 10⁻² nm だけ離れると,対 LJ エネルギーは 4.4kJ mol⁻¹ 低下する. ところが,逆にこれと同じ距離だけ水分子ペアが近づくと,対 LJ エネルギーは 18.6 kJmol⁻¹ も上昇する.したがって,平均としては系の LJエネルギーは大きく上昇する.

3.2 プラスチック氷における水素結合の局所連結性

プラスチック氷はその回転運動ゆえに, グローバルに 秩序化した水素結合ネットワークをもつことはできな い.その場合,分子が整列したまま長距離秩序をもたな い水素結合ネットワーク,すなわちプラスチック氷にお ける水素結合の連結性は,どのように記述されるのであ ろうか?

氷町は2つの独立なダイヤモンド構造の水素結合ネッ トワーク(氷Ic)が、直交座標空間の一軸方向に半格 子だけずれて入れ子になったネットワーク構造となって いる.これら2つのネットワーク格子を、それぞれ副格 子AおよびBと呼ぶことにする.氷町では、個々の水分 子は副格子AまたはBのいずれか一方のみに属して(水 素結合して)おり、両方の副格子に同時には属さない. 氷町と同じ副格子AとBをプラスチック氷に対して適用 して得られた結果の要点を記す.

プラスチック氷において,水分子あたりの隣接する8個 の水分子との水素結合の連結パターンの調査では,5種類 の主要な水素結合パターンをもつ水分子が,全分子のうち 大部分(75%)を占めることがわかった.これら5つの 水素結合パターンを,存在割合の大きい順に Type-(a), (b), (c), (d), (e)(割合はそれぞれ28%,21%,13%, 9%, 5%)と呼び, これらを図5に描いた. Type-(a) から(e)それぞれの特徴は以下の通りである.

Type-(a):4本の水素結合をもち,結合のすべてが副格 子AまたはBの片方のみに属する四面体型結合.氷Ⅲで はすべての水分子がこの水素結合パターンである.最も 理想的な水素結合パターンで,分子あたりのCoulomb 相互作用はすべての水素結合パターンの中でもとくに低 エネルギー側に分布する(Himoto et al., 2011).

Type-(b):4本の水素結合をもつが、そのうち1本はも ういっぽうの副格子の水分子に繋がっている.つまり Type-(b)の水分子は副格子AとBを架橋する.水分子あ たりの Coulomb 相互作用は、同じ4本の水素結合パ ターンである Type-(a)と同様のエネルギー範囲に分布 し、ピーク位置も Type-(a)とほぼ一致する.

Type-(c):3本の水素結合をもち,結合のすべてが副格 子AまたはBの片方のみに属する.すなわち Type-(a) の結合のうち1本が消失した水素結合パターンである. 結合本数が少ないため,他の結合パターンよりも高エネ ルギー側に Coulomb 相互作用の分布がシフトする.

Type-(d): 3本の水素結合をもち,2本が片方の副格子 に,1本がもう一方の副格子に繋がっている.同じ3本 の結合パターンで,より歪みの小さなType-(c)よりも 相互作用エネルギーは低エネルギー側にピークを持つ. これについてはType-(d)の水分子が単位格子の外側の 水分子と水素結合している可能性が考えられる(第2近 接分子まで含めた水素結合パターンの解析は行われてい ない).

Type-(e):5本の水素結合をもち、4本はType-(a)と同 じ結合パターンで、1本がもう一方の副格子と繋がって いる.結合本数が多いため、この結合パターンの分子あ たりの Coulomb 相互作用は、ほかの水素結合パターン



図5:プラスチック氷(圧力12 GPa,温度 640 K)における主要な5つの水素結合パターン. 青色と赤色の球は酸素原子を表し、2つの副格子で色分けした.青色と黄色の棒は水素結合 で,それぞれ,同じ副格子の水分子対を結ぶ水素結合と,副格子間を架橋する水素結合を表し ている.水素原子は描かれていない.

Fig. 5 : The five most popular hydrogen-bonding patterns in plastic ice at 12 GPa and 640 K. Spheres denote oxygen, which are divided into two sublattices by colors blue and red. Blue and yellow cylinders correspond to the hydrogen bonds, which connects water molecules on the same sublattice and bridges different sublattices, respectively. Hydrogen atoms are not illustrated.

よりも低エネルギー側にシフトする.

このように、プラスチック氷では、個々の水分子のも つ水素結合の連結パターンは多様である.この性質は 4.1節で述べた個々の水分子の微小変位に関係する. Inherent 構造における微視的構造と水素結合パターン の解析結果が示すように、プラスチック氷は氷 WIとは格 子構造もネットワーク性も異なる、水(氷)の一形態と 考えられる.

プラスチック氷と氷Ⅲとの回転自由エネル ギー障壁の比較

結晶相の氷 Π では,水分子のOH結合は立方体の頂 点方向(±1,±1,±1)のいずれかを向き,分子回転は 熱エネルギーの指標 $k_B T$ (k_B はBoltzmann定数, T は温度)をはるかに超える自由エネルギー障壁によって 抑制される.しかしプラスチック氷では,自由に分子回 転できることから,自由エネルギー障壁は $k_B T$ と同程度 に低いはずであり,事実,以下のように氷とプラスチッ ク相における回転の自由エネルギー障壁が示された.

OH 結合の方向ベクトルは極角 θ と方位角 φ を用い て極座標系で表現でき、このとき θ と φ の関数として の Helmholtz 自由エネルギー $A(\theta, \varphi)$ は規格化された 確率密度 $\rho(\theta, \varphi)$ を用いて $A = -k_B T \ln \rho$ により与えら れる. $\rho(\theta, \varphi) d\theta d\varphi$ は、MD シミュレーション から OH 結合ベクトルの極角と方位角がそれぞれ $[\theta, \theta+$ $d\theta], [\varphi, \varphi+d\varphi]$ の微小区間内に存在する確率として 求める. 自由エネルギー障壁は自由エネルギーの最小値 からの差 $\Delta A \equiv A(\theta, \varphi) - A_{\min}(\theta_0, \varphi_0)$ として求める.

10 GPa における氷 MI (540 K, 560 K, 580 K) とプ ラスチック氷 (620 K, 640 K, 660 K) に関して, OH 結合方向を $\theta = \pi/4$ に固定して区間 $-\pi/4 \le \varphi \le \pi/4$ で 回転させた場合の自由エネルギー障壁 $\Delta A(\theta = \pi/4, \varphi)$ の変化を,対応する $k_{a}T$ とともに図 6 にプロットした. 氷 MI では自由エネルギー障壁は熱エネルギー $k_{b}T$ より はるかに高く,プラスチック氷に相変化すると障壁は劇 的に低下し, $k_{b}T$ よりもやや低くなることが確認でき る (Takii et al., 2008).

5. プラスチック氷の水素結合ダイナミクスと回 転運動

プラスチック氷と氷Ⅲおよび水の水素結合の自己相関 は,履歴非依存型水素結合相関関数(Starr et al., 2000)

$$C_{\rm HB}(t) \equiv \frac{\langle [h_{ij}(0) - \overline{h}] \ [h_{ij}(t) - \overline{h}] \rangle}{\langle [h_{ij}(0) - \overline{h}] \ [h_{ij}(0) - \overline{h}] \rangle}$$
(5)

により調べられている(Himoto et al., 2012). ここで $h_{ij}(t)$ は時刻 t における分子対 $\{i, j\}$ 間の水素結合の有



図6: 圧力 10 GPa における,氷 Ⅶ (540 K, 560 K, 580 K) とプラスチック氷 (620 K, 640 K, 660 K)の,水分子の回 転の自由エネルギー障壁の比較.青色が氷 Ⅶに,黒色がプラ スチック氷に対応する.水平の線は各温度における熱エネル ギー k_BT を表す.

Fig. 6: Rotational free energy barriers for ice VII and			
plastic ice at 10 GPa. The blue and black curves corre-			
spond to ice VII (at 540, 560, 580 K) and plastic ice (at 620,			
640, 660 K), respectively. Horizontal lines indicate the			
corresponding thermal energies $k_{\rm B}T$.			

無を表す指標パラメーターで、水素結合していれば値 1、そうでなければ値0をもつ。角括弧 $\langle ... \rangle$ は対象と する分子対 $\{i, j\}$ の組み合わせと、時刻の原点の数と の両方についての平均を意味する。また \bar{h} は、 $h_{ij}(t)$ の 長時間平均をさらに分子対 $\{i, j\}$ の組み合わせについ て平均をとったものである。 $C_{HB}(t)$ はその定義から、初 期時刻で水素結合していた水分子対が、時間 tの経過後 に(途中に起こる結合の切断と再結合に関係なく)結合 している確率を表している。

圧力 12 GPa におけるプラスチック氷(640 K)と氷 WI(500 K)および水(960 K)の,水素結合相関関数 $C_{\text{HB}}(t)$ が図7に与えられている.氷WIでは衝振(libration)による結合の切断がやや $C_{\text{HB}}(t)$ を下げるが,1に かなり近い値で横這いを保つ.水では分子拡散に伴い $C_{\text{HB}}(t)$ は急激に減衰し,その後0へと収束する.これ は、流体において一度離れた水分子ペアが再び巡り会う ことがないことを示す.一方でプラスチック氷では,回 転運動のために水素結合が切断されるので,水と同様に $C_{\text{HB}}(t)$ が急激に減衰するが,有限の値(ここでは0.323 程度)へと収束する.これはプラスチック氷を構成する 水分子が拡散しないことが原因であって,いったん結合 が切断しても、回転を繰り返すうちに再びもとの分子と 結合する.

水素結合相関関数 C_{HB} と再配向相関関数 C_{RC} の減衰の 緩和時間について、プラスチック氷と水を比べてみる. とくに C_{HB} の緩和時間は、水素結合の寿命に対応する. それぞれの緩和時間を表2に示す.水では C_{RC} の緩和時 間が C_{HB} よりかなり長いのに対し、プラスチック氷で



図7: 圧力12 GPa における,氷Ⅲ (500 K),プラスチック 氷 (640 K),水 (960 K)の水素結合相関関数. 圧力は12 GPa.

Fig. 7 : Hydrogen-bond correlation functions of ice VII (at 500 K), plastic ice (at 640 K), and supercritical water (at 960 K) at a pressure of 12 GPa.

表 2:プラスチック氷と水の再配向相関関数と水素結合相関 関数の緩和時間. 圧力は 12 GPa で, プラスチック氷と水の 温度はそれぞれ 640 K と 960 K.

Table 2: Relaxation times of the reorientational correlation and the hydrogen-bond correlation functions for plastic and the supercritical fluid phases. The temperatures of plastic and the supercritical fluid phases are 640 K and 960 K, respectively, at the pressure of 12 GPa.

	Relaxation time of correlation function / ps	
	Reorientational	Hydrogen-bond
Plastic	1.01	0.839
Fluid	0.223	2.54

は C_{HB} と C_{RC} の緩和時間は,おおむね近い値といえる. この結果は、プラスチック氷の格子点への束縛と自由回転を端的に示している.またそれゆえ、水における C_{HB} と C_{RC} の緩和時間の差異は並進運動の影響に起因するといえる.

6. H₂O-like モデルでのプラスチック相と H₂Sのプラスチック相

水素化合物として水 (H₂O)の類縁である硫化水素 (H₂S) では、最密充填構造である面心立方 (Face-Centered Cubic; FCC)型のプラスチック相が、すで に実験により同定されている (Collins et al., 1989). 硫 黄の電気陰性度は酸素より小さいため、硫化水素の水素 結合は水より弱い. 硫化水素では、充填の効果が水素結 合に比べ相対的に大きく、そのため水と同じ BCC 配置 ではなく、最密充填構造のプラスチック相となると考え られる.そこで、プラスチック相における水素結合の影 響を評価するために、TIP5P モデルの Coulomb 相互作 用にパラメーター qを乗じることで、水素結合の強さ



図8: 圧力 10 GPa における Coulomb 相互作用エネルギー のスケールパラメーター q に対して,温度上昇に伴い系が 辿る相の変化.

Fig. 8: Stable phases of water at 10 GPa upon successive heating of ice VII under various q values that scale the Coulombic interaction energy of the original model (i.e., q=1).

を人為的にスケールした H2O-like モデルを用いて、プ ラスチック相の再現が試みられた(Takii et al., 2008). q=1 が本来の水分子モデル(ここでは TIP5P)に対応 し, q > 1ならば Coulomb 相互作用はより強く, q < 1なら弱い. 圧力を10 GPa に設定し, qの値を変え, MD シミュレーションで BCC 結晶の温度を変えて相変 化を調べる. qの値が0.85から1.1までの範囲で,温 度が 450 K から 900 K に至るまでに系が辿る相の変化 を図8に示す. qの値が大きくなるにつれ, BCC型プ ラスチック相が存在する温度領域が徐々に狭まってゆ く. qが小さくなると、最密充填(FCC)配置のプラス チック相が発現し、BCCを抑え支配的になってゆく. q ≤0.85 では450 Kの時点で, BCC 結晶は最密充塡 (FCC)型のプラスチック相へと相変化する.この結果 から、プラスチック相の分子配置は水素結合の強さに依 存し、水素結合と充塡の効果の大小関係が大きな要因で あるといえる.水素結合が強ければプラスチック相は BCC 型となり、水素結合が弱ければ分子充塡が優勢に なり、最密充塡型のプラスチック相が発現する.相互作 用を弱めた H₂O-like モデルで最密充塡型プラスチック 相が発現することは、上記の H₂S のプラスチック相が 最密充填(FCC)型であることに対応づけられ,水の プラスチック相が実在する可能性を補強する.

7. 最密充塡型プラスチック氷

H₂O-like モデルによる前節の結果は,もうひとつ重 要な示唆を含んでいる.最密充塡型プラスチック氷の存 在の可能性である.前節の要点は,分子間相互作用エネ ルギーの弱い(つまりポテンシャルエネルギーが高い) 系では充塡の効果が大きく,最密充塡構造のプラスチッ ク相が発現することである.したがって,さらに高圧で は充塡効果が優先して,BCC型プラスチック氷はFCC 構造へと相転移する可能性が示唆される.その可能性を 裏付けたのが Aragones らによる FCC型プラスチック 氷の発見である (Aragones and Vega, 2009).彼らは TIP4P/2005 モデルでの MD シミュレーションにより, BCC型プラスチック氷と相境界で隔てられて,FCC型 プラスチック氷がより高圧側で存在することを示した.

8. おわりに

計算機シミュレーションにより,氷IIIと水に挟まれた 温度・圧力領域で存在が予測されているプラスチック氷 について,現在までに明らかとなった構造やダイナミク スの特徴をまとめた.プラスチック氷の発見は,未解明 だった氷IIIの融解曲線の不一致の問題にひとつの解釈を 提示するものであるが,現状ではシミュレーションによ る予測にとどまる.しかしながら,様々な水の剛体ポテ ンシャルモデルでプラスチック氷の発現が確認されてお り,プラスチック氷が実在する水の相であることが強く 期待でき,実験による同定が待たれる.計算機シミュ レーションからのアプローチとしては,内部自由度や多 体相互作用を取り入れた多自由度水分子モデルでの検証 や,化学結合の変化も取り入れた計算によるプラスチッ ク氷の同定・物性評価も有用だろう.

Appendix:自由エネルギーの計算

氷 III, プラスチック氷, 水の Helmholtz 自由エネル ギーの計算方法を示す (Takii et al., 2008). Helmholtz エネルギー A が得られれば, Gibbs 自由エネル ギー G は G=A+pV により計算できる. ここで V は 系の体積のアンサンブル平均で,設定圧力 p のもとで 定温定圧 MD シミュレーションにより求める. いまは 1 成分系を取り扱うので,化学ポテンシャルは G のモ ルあたりの量として求まる.また,本節で述べる自由エ ネルギー計算に関し,水または氷が関係する相転移の詳 細については,文献 (Koyama et al., 2004) と (Nakayama et al., 2009) を参照されたい.

A. 氷Ⅷ

固体の Helmholtz 自由エネルギーA(T, V) (T は 温度) は

$$A(T, V) = U_{q}(V) + F_{h}(T, V)$$
$$+ F_{a}(T, V) - TS_{c}$$
(A1)

と表せる (Takii et al., 2008; Tanaka, 1998; Koyama and Tanaka, 2001; Koyama et al., 2004; Nakayama et al., 2009). $U_{\mathfrak{q}}(V)$ は温度 T = 0 での内部エネルギー (つまりポテンシャルエネルギー) であり, 残余エント

ロピー Sc の原因となる複数の構造(すべて ice rule^[#2] (Bernal and Fowler, 1933) をみたし, 分極をもたな い) に対する Inherent 構造のポテンシャルエネルギー の平均値を用いる.残余エントロピーS。は、N 個の水 分子からなるプロトン無秩序氷では NkB ln(3/2)である (Pauling, 1935). 氷Ⅲの残余エントロピーの実測値 (Brown, 1966) は 0.47 R (R は気体定数) で, これは Pauling の残余エントロピー $Nk_{B} \ln(3/2)$ (~0.41 R) にかなり近い.氷Ⅲ構造では、すべての結合角がほぼ 109.5° であるため水素結合ネットワークの歪みも小さ く,各分子がとりうる6種類の配向はエネルギー的に等 価とみなせるので, Pauling の残余エントロピーをその まま適用するのは妥当である.式 (A1) の $F_h(T, V)$ と Fa(T, V)はそれぞれ調和振動自由エネルギーと非調 和振動自由エネルギーである. $F_{\rm h}(T,V)$ は、調和振動 の振動数 ν_i により、

$$F_{\rm h}(T,V) = k_{\rm B} T \sum_{i} \ln\left(\frac{h\nu_i}{k_{\rm B}T}\right) \tag{A2}$$

から計算される.hは Planck 定数である. $F_h(T, V)$ も上記の $U_q(V)$ と同様に、プロトン位置の無秩序性を 考慮し、多数の異なる分子配向についての平均値を用い る.非調和振動自由エネルギー $F_a(T, V)$ は関係式

$$\frac{F_{\rm a}(T,V)}{T} = -\int_0^T \frac{U_{\rm a}}{T'^2} \,\mathrm{d}T' \tag{A3}$$

により求まる. ここで U_a は非調和振動エネルギーで, これは個々のプロトン配置における調和振動からのずれ に起因するが,他のプロトン配置に至る経路は考慮され ていない (代わりに,これは残余エントロピーに取り込 まれている).定温定容 MD シミュレーションにより得 られる内部エネルギー U から,上述の U_q と調和振動 エネルギー $U_h = (6N-3)k_BT$ を差しひくことで求めら れる:

$$U_{\rm a} = U - U_{\rm q} - U_{\rm h}.\tag{A4}$$

B. プラスチック氷

熱力学的積分法により計算される.熱力学的積分法で は自由エネルギーは、カップリングパラメーターλの関 数として、次の形式で表されるポテンシャルエネルギー 関数

$$\Phi(\lambda) = \Phi_0 + \lambda^k (\Phi_1 - \Phi_0)$$
 (A5)
を用いて

 $A_1 = A_0 + \Delta A$

$$\equiv A_0 + \int_0^1 \left\langle \frac{\partial \Phi(\lambda)}{\partial \lambda} \right\rangle_{N,V,T,\lambda} \mathrm{d}\lambda \tag{A6}$$

によって計算される (Takii et al., 2008; Koyama et al., 2004; Nakayama et al., 2009). 下付き添字の0と1は

[[]it2] Ice rule とは「水は分子として存在し、各分子は必ず 水素結合を2本受容し、2本供与する」という規則で ある.

139

それぞれ参照系と実在系を意味する.カップリングパラ メーター λ は0から1までの範囲で任意の値をとり、式 (A5) からもわかるように参照系のポテンシャルエネル ギー関数値は $\Phi_0 \equiv \Phi(\lambda=0)$, 実在系のポテンシャルエネ ルギー関数値は $\Phi_1 \equiv \Phi(\lambda=1)$ である. k は 2 以上の値を もつ任意の整数で、状況に応じて適当な値に設定する. 文献 (Takii et al., 2008) ではプラスチック氷では k= 6に設定している. 添字付きの角括弧 $\langle ... \rangle_{N,V,T,\lambda}$ は N, V, T, λ を一定に保った MD シミュレーションから得 られる長時間平均を表す. ここで V の設定値は与えら れた圧力下での定温定圧 MD 計算から得る体積の長時 間平均を使用する.以上をもとにΔAの被積分項 $\langle \partial \Phi(\lambda) / \partial \lambda \rangle_{N,V,T,\lambda}$ を区間 [0,1]の間で λ に関して数値 積分すれば、式(A6)の積分項が求まる. プラスチッ ク氷の参照系は自由回転子と振動数 ν_{0} (=75 cm⁻¹)の Einstein 振動子とを組み合わせた系とし、その Helmholtz エネルギー Ao は解析的に

$$A_{0} = U_{q}(V) + 3Nk_{B}T \ln\left(\frac{h\nu_{0}}{k_{B}T}\right)$$
$$-Nk_{B}T \ln\left[\frac{\pi^{1/2}}{\sigma}\prod_{\alpha=1}^{3}\left(\frac{8\pi I_{\alpha}k_{B}T}{h^{2}}\right)^{1/2}\right]$$
(A7)

によって与えられる.ここで I_{α} (α =1,2,3) は水分子 の主慣性モーメントである. σ は水分子の対称数で値2 をもつ.

C. 水

プラスチック氷と同様の手順で熱力学的積分法により 求める(Takii et al., 2008; Koyama et al., 2004; Nakayama et al, 2009). 文献(Takii et al., 2008) では式 (A5)のパラメーター kの値は 8 に設定している.参 照系は剛体非線形分子の理想気体とする.つまり参照系 の Helmholtz エネルギー A_0 は解析的に

$$A_{0} = Nk_{\rm B}T \left\{ \ln\rho - 1 + \ln\Lambda^{3} - \ln\left[\frac{\pi^{1/2}}{\sigma}\prod_{\alpha=1}^{3} \left(\frac{8\pi I_{\alpha}k_{\rm B}T}{h^{2}}\right)^{1/2}\right] \right\}$$
(A8)

によって与えられる.ただし $\rho \equiv N/V$ であり, Λ は熱 de Broglie 波長である.

参考文献

- Abascal, J. L. and Vega, C. (2005) A general purpose model for the condensed phases of water: TIP4P/2005. *J. Chem. Phys.*, **123(23)**, 234505.
- Aragones, J. L., Conde, M. M., Noya, E. G., and Vega, C. (2009) The phase diagram of water at high pressures as obtained by computer simulations of the TIP4P/2005 model: the appearance of a plastic crystal phase. *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **11(3)**, 543–555.
- Aragones, J. L. and Vega, C. (2009) Plastic crystal phases of simple water models. J. Chem. Phys., 130(24), 244504.

- Asahara, Y.,Hirose, K., Ohishi, Y., Hirao, N., and Murakami, M. (2010) Thermoelastic properties of ice VII and its high-pressure polymorphs: Implications for dynamics of cold slab subduction in the lower mantle. *Earth. Planet. Sci. Lett.*, **299(3-4)**, 474-482.
- Berendsen, H. J. C., Grigera, J. R., and Straatsma, T. P. (1987) The missing term in effective pair potentials. *J. Phys. Chem.*, **91(24)**, 6269–6271.
- Bernal, J. D. and Fowler, R. H. (1933) A Theory of Water and Ionic Solution, with Particular Reference to Hydrogen and Hydroxyl Ions. J. Chem. Phys., 1(8), 515.
- Besson, J. M., Pruzan, P., Klotz, S., Hamel, G., Silvi, B., Nelmes, R. J., Loveday, J. S., Wilson, R. M., and Hull, S. (1994) Variation of Interatomic Distances in Ice-VIII to 10 GPa. *Phys. Rev. B*, **49(18)**, 12540–12550.
- Bridgman, P. W. (1937) The Phase Diagram of Water to 45,000 kg/cm². J. Chem. Phys., **5(12)**, 964.
- Brown, A. J. (1966) Preliminary Investigation of the Phase Boundaries between Ice VI and VII and Ice VI and VIII. *J. Chem. Phys.*, **45(11)**, 4360–4361.
- Collins, M. J., Ratcliffe, C. I., and Ripmeester, J. A. (1989) Deuteron and sulfur-33 NMR line-shape studies of the molecular motion in the liquid and solid phases of hydrogen sulfide and the solid II phase of hydrogen selenide. *J. Phys. Chem.*, **93(21)**, 7495–7502.
- Datchi, F., Loubeyre, P., and LeToullec, R. (2000) Extended and accurate determination of the melting curves of argon, helium, ice (H₂O), and hydrogen (H₂). *Phys. Rev.* B, **61(10)**, 6535–6546.
- Fei, Y., Mao, H., and Hemley, R. J. (1993) Thermal expansivity, bulk modulus, and melting curve of H₂O-ice VII to 20 GPa. J. Chem. Phys., 99(7), 5369.
- Himoto, K., Matsumoto, M., and Tanaka, H. (2011) Lattice- and network-structure in plastic ice. *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **13(44)**, 19876–19881.
- Himoto, K., Matsumoto, M., and Tanaka, H. (2012) Rotational dynamics of plastic ice. *J. Phys. Soc. Jpn.*, **81**, SA023.
- Jorgensen, W. L., Chandrasekhar, J., Madura, J. D., Impey, R. W., and Klein, M. L. (1983) Comparison of simple potential functions for simulating liquid water. *J. Chem. Phys.*, **79(2)**, 926.
- Koyama, Y., Tanaka, H., Gao, G. T., and Zeng, X. C. (2004) Melting points and thermal expansivities of protondisordered hexagonal ice with several model potentials. *J. Chem. Phys.*, **121(16)**, 7926.
- Koyama, Y. and Tanaka, H. (2001) Thermal expansivity of two-dimensional ice. *Chem. Phys. Lett.*, 341, 619–624.
- Mahoney, M. W. and Jorgensen, W. L. (2000) A five-site model for liquid water and the reproduction of the density anomaly by rigid, nonpolarizable potential functions., J. Chem. Phys., 112(20), 8910.
- Matsumoto, M. (2007) Relevance of hydrogen bond definitions in liquid water. J. Chem. Phys., **126(5)**, 054503.
- Mishima, O. and Endo, H. (1978) Melting curve of ice VII. *J. Chem. Phys.*, **68(10)**, 4417.
- Nakayama, T., Koga, K., and Tanaka, H. (2009) Augment-

ed stability of hydrogen clathrate hydrates by weakly polar molecules. *J. Chem. Phys.*, **131(21)**, 214506.

- Ohmine, I. and Tanaka, H. (1993) Fluctuation, relaxations, and hydration in liquid water. Hydrogen-bond rearrangement dynamics. *Chem. Rev.*, **93(7)**, 2545–2566.
- Pauling, L. (1935) The Structure and Entropy of Ice and of Other Crystals with Some Randomness of Atomic Arrangement. J. Am. Chem. Soc., 57(12), 2680–2684.
- Pistorius, C. W. F. T., Pistorius, Martha C., Blakey, J. P., and Admiraal, L. J. (1963) Melting Curve of Ice VII to 200 kbar. J. Chem. Phys., 38(3), 600.
- Song, M., Yamawaki, H., Fujihisa, H., Sakashita, M., and Aoki, K. (2003) Infrared observation of the phase transitions of ice at low temperatures and pressures up to 50 GPa and the metastability of low-temperature ice VII. *Phys. Rev. B*, 68(2), 024108.

- Starr, F. W., Nielsen, J. K., and Stanley, H. E. (2000) Hydrogen-bond dynamics for the extended simple pointcharge model of water. *Phys. Rev. E*, 62(1), 579-587.
- Stillinger, F. H. and Weber, T. A. (1983) Inherent structure in water. J. Phys. Chem., 87(15), 2833–2840.
- Takii, Y., Koga, K., and Tanaka, H. (2008) A plastic phase of water from computer simulation. J. Chem. Phys., 128(20), 204501.
- Tanaka, H. (1998) Thermodynamic stability and negative thermal expansion of hexagonal and cubic ices. J. Chem. Phys., 108(12), 4887.
- Umemoto, K., Wentzcovitch, R. M., de Gironcoli, S., and Baroni, S. (2010) Order-disorder phase boundary between ice VII and VIII obtained by first principles. *Chem. Phys. Lett.*, **499(4-6)**, 236-240.

天然ガスハイドレート結晶構造に及ぼす ガスの組成とその起源

— ロシア・バイカル湖の結晶構造II型ハイドレートの例 —

八久保晶弘1)

2012年9月7日受付, 2013年1月16日受理

これまでに世界各地で発見されている天然ガスハイドレートの大半は結晶構造 I 型であるが,天然 ガス組成の多様性によって他の結晶構造をとる場合がある.本稿では,ロシア・バイカル湖で採取さ れた結晶構造 I 型・II型が共存する天然ガスハイドレートの話題を中心に紹介し,結晶構造を決定す る重要な因子であるガス組成,およびその背後にある天然ガス起源について議論する.

Effect of gas composition and its origin on crystallographic structure of natural gas hydrate — a case study of crystallographic structure II gas hydrate in Lake Baikal, Russia —

Akihiro Hachikubo1

Almost all natural gas hydrates discovered in the world belong to the crystallographic structure I, however, other structures also exist due to variety of gas composition. In this paper, I would like to introduce a case study of double-structure gas hydrates obtained in Lake Baikal, Russia. I also discuss the variety of gas composition that controls crystallographic structure of gas hydrates, and the origin of natural gases that affects to the molecular composition.

1. はじめに

海底・湖底堆積物中や永久凍土中などに存在する地球 上の天然ガスハイドレートは、将来のエネルギー資源と して期待されると同時に、温室効果ガスであるメタンを 大量に包蔵していることから、地球環境変動に関わる要 因の一つとしても注目される.ガスハイドレートの諸物 性は多くの研究者によって調べられてきたが、なかでも 結晶構造の違いやその変化は、水和数・ケージ占有率や 解離熱などの諸物性に大きな影響を与える.結晶構造に ついては、これまでに I 型、II 型、H 型の 3 種類 (Sloan and Koh, 2007)が自然界で確認されている.こ れらは、水分子の水素結合によって構成されるカゴ状の 多面体の組み合わせが異なり、例えば I 型は 12 面体 (5¹²) と 14 面体 (5¹²6²)、II 型は 12 面体 (5¹²) と 16 面 体(5¹²6⁴)それぞれの大小ケージからできている.H 型はさらにサイズの大きな20面体(5¹²6⁸)を持ち,大 きなゲスト分子を包接することができる.

包接される天然ガスの起源とそのガス組成は様々であ る.炭化水素を主成分とする可燃性天然ガスは,生物起 源ガスと非生物起源ガスに大別され,前者の生物起源ガ スはさらに微生物起源ガスと熱分解起源ガスの2種類に 分けられる.微生物起源ガスは,古細菌に分類されるメ タン生成菌が嫌気条件下で生成するメタンを主成分と し,CO₂を水素で還元する経路と酢酸を分解する経路 が知られている.これに対し,熱分解起源ガスは堆積層 深部の有機物が地熱によって熱分解(クラッキング)し て生ずるものであり,メタン以外にも炭素数の異なる炭 化水素(エタン,プロパン,ブタンなど)が含まれる. 後述するように,メタンに対する他の炭化水素成分の割 合やそれらの炭素同位体比によって,ガス起源を推定す ることが可能である.

これまでに世界各地の海底堆積物中で見つかっている 天然ガスハイドレートのゲストガスの主成分はメタンで ある.その大半は CO₂ 還元経路により生成した微生物

北見工業大学環境・エネルギー研究推進センター
 Environmental and Energy Resources Research Center, Kitami Institute of Technology, Kitami, Japan e-mail: hachi@mail.kitami-it.ac.jp

起源メタンであり(Milkov, 2005), エタンやプロパン などの他の炭化水素成分が極めて少ない.純粋なメタン ハイドレートは結晶構造 I 型をとることから,これまで に見つかっている天然ガスハイドレートの結晶構造のほ とんどは I 型であると言ってもよい.沖縄トラフの熱水 域で発見された天然の CO₂ ハイドレート(Sakai et al., 1990)は、ゲストガスの主成分が例外的に CO₂ であり, メタンや硫化水素を僅かに含むと考えられるものの,そ のガス組成からやはり結晶構造 I 型とみられる.

一方,他の結晶構造については,グリーンランド氷床 氷中の空気ハイドレート (Shoji and Langway, 1982) やメキシコ湾の天然ガスハイドレート (Davidson et al., 1986) で結晶構造 II 型が発見されている.結晶構造 H型は、メキシコ湾のハイドレート試料の解離ガス組成 からその存在が示唆されていたが (Sassen and Mac-Donald, 1994), PXRD (粉末X線回折法) および NMR(核磁気共鳴)分光法で直接的に確認されたのは カナダ・バンクーバー島沖の天然ガスハイドレートであ る(Lu et al., 2007).酸素・窒素分子の分子径はメタン のそれよりも小さく,空気ハイドレートが結晶構造II型 をとるのは例外的であるが,結晶構造Ⅱ型やⅡ型の大 ケージのサイズは I 型のそれよりも大きく, プロパンや ブタン, さらに大きな炭化水素分子を包接する. 例え ば、メキシコ湾のⅡ型試料のゲストガスにはプロパンが 15%近くも含まれ(Brooks et al., 1984), マルマラ海の II型試料ではプロパンが約19%,イソブタンが約10% も含まれる (Bourry et al., 2009). バンクーバー島沖の H型試料ではメチルシクロペンタンやメチルシクロヘキ サン等がゲストガスとなっている(Lu et al., 2007).熱 分解起源ガスはエタンやプロパン,ブタンを多く含み, メタンとこれらとの混合ガス系では平衡圧が大幅に下が り (Sloan and Koh, 2007), 安定化する. 原油にまみれ た天然ガスハイドレートが見つかる場合もあり(例えば Sassen and MacDonald, 1994; Sassen et al., 1999; Chapman et al., 2004; Khlystov et al., 2012), $\sim \sim \gamma$ ン, ヘキサン等の異性体が結晶に入り込む可能性があ る. すなわち、多様な天然ガス組成がガスハイドレート の結晶構造を決定し、未知の組成の混合ガスハイドレー トが今後さらに発見されるかもしれない.

結晶構造 I 型はホスト(水)分子による大小2 種類の ケージで構成され,その数量比は3:1であり,メタン は I 型の大小ケージそれぞれに包接される.分子径のや や大きいエタンは,数 100 MPa の高圧下で I 型の大小 両ケージに包接されることが確認されているものの (Morita et al., 2000),天然ガスハイドレートが存在す る数 MPa~数 10 MPa 程度の圧力下では小ケージの占 有率は極めて小さいとみられる.Udachin et al. (2002) によれば,大小ケージの占有率はそれぞれ1.0 と 0.058 であり,分子径とケージサイズの大小関係 (Sloan and Koh, 2007)から想像される通り,エタンはほぼ I 型の 大ケージにのみ包接されるとみてよい、したがって、純 粋なメタンハイドレート・エタンハイドレートとも結晶 構造 I 型をとるが、メタン・エタン混合ガス系ではある 特定の混合比で結晶構造 II 型が出現する (Subramanian et al., 2000a; 2000b). 結晶構造II型は I 型 と同様に大小2種類のケージで構成され、I型と比較し て大ケージはやや大きく、小ケージは僅かに小さい. Ⅱ 型の大小ケージの数量比は I 型とは逆転して1:2 であ り, エタンは小ケージに入りにくいために, 水和数・ ケージ占有率や解離熱がメタン・エタン混合比に対して 不連続に変化する(Uchida et al., 2002; Kida et al., 2007;八久保ほか, 2009; Hachikubo et al., 2012). こ のようなガス組成の違いによる結晶構造変化の例は、メ タン・シクロプロパン混合ガス系でも起こることが知ら れており (Makino et al., 2005), 極めて興味深い現象 であるが、これと同等のケースが自然界で見つかったこ とは注目に値する.

本稿では、ロシア・バイカル湖の湖底堆積物コア中に 見つかったメタン・エタン混合ガス系のガスハイドレー トに関する話題を中心にレビューし、結晶構造 I 型・II 型が共存する特異な産状とその成因について焦点をあ て、その背景に存在するバイカル湖の天然ガス起源の多 様性について紹介する.

バイカル湖の表層型天然ガスハイドレートの 探索

ロシア・シベリアに位置するバイカル湖は,現在も幅 が広がりつつある世界最深の地溝湖である(図1).そ して,天然ガスハイドレートの存在する淡水湖としては 現在のところ,唯一である.地形的には南湖盆,中央湖 盆,北湖盆で構成され,南湖盆と中央湖盆の間にはセレ ンガデルタによる堆積域,中央湖盆と北湖盆の間にはオ ルホン島とアカデミシャンリッジ(湖嶺)が存在する. 湖底には多数の泥火山や断層,水・ガス湧出域,地熱流 量の特異点などがあり,シベリア・タイガの静かな神秘 の湖という印象とは裏腹に,地質活動が極めて活発であ る.

1997年, Baikal Drilling Project により南湖盆の湖 底面から 121 m 深・161 m 深の堆積物中にガスハイド レートが発見されて以来(Kuz'min et al., 1998),湖底 面から僅か数 m までの深度に存在する表層型ガスハイ ドレートの産状が相次いで報告されている(Van Rensbergen et al., 2002; Matveeva et al., 2003; Klerkx et al., 2003; Khlystov, 2006; Hachikubo et al., 2010; Khlystov et al., 2012). 表層型ガスハイドレートは,夏季には調 査船から,冬季には湖氷上から長さ数 m の重力式コア ラーを用いて比較的容易に採取することができ,時には



図1: バイカル湖の天然ガスハイドレート採取地点 (赤丸) 21ヶ所,および天然ガス湧出地点(ピンク 三角) 4ヶ所.地点情報はそれぞれ Khlystov et al (2012), Kalmychkov et al. (2006) による.緑四角は BDP-97 による深層掘削地点を示す.

Fig. 1: Distribution map of the 21 sites (red circles) where gas hydrates have been retrieved (location data: Khlystov et al., 2012) and 4 gas seep sites (pink triangles, location data: Kalmychkov et al., 2006) in Lake Baikal. The green square indicates the location of the BDP-97 borehole.

透明な結晶が観察できるほど新鮮な試料が得られる.

バイカル湖では近年、ロシア科学アカデミーシベリア 支部陸水学研究所 (イルクーツク), ゲント大学 (ベル ギー),北見工業大学などの国際共同研究によって表層 型ガスハイドレートの調査が継続的に進められており, 2011 年までに南湖盆および中央湖盆の計 21ヶ所で表層 型ガスハイドレートが採取されている(Khlystov et al., 2012). このうち, 11ヶ所の発見は 2010-2011 年の最近 の2年間に集中している.これらの成果は主として、水 平分解能が20m平方, 垂直分解能が1m以下のマルチ ビーム音響探査装置を用いた詳細な湖底地形図 (Cuylaerts et al., 2012) によって, これまで分からな かったマウンドやポックマークなどの微細な特異点が多 数明らかにされたことに起因している. ガスハイドレー トの回収された地点の水深は、410m (Goloustnoye G-2 ガス湧出域)から 1402 m(St.Petersburg ガス湧出 域)まで幅広く、またこうした地点では湖底から立ち上 るガスフレア(ガス気泡の集合体)が魚群探知機で見つ かることもある.今後も発見が続くものと期待されてい る.

3. バイカル湖の天然ガス起源の分類

天然ガスハイドレートの結晶構造に影響するガス組成

は、ガスがどのような起源であるか、ということと密接 な関係がある.経験的には、嫌気環境下で有機物を微生 物(メタン生成菌)が分解してできた微生物起源ガスは メタンに富み、メタン・エタン炭素同位体比(δ^{13} C: 標準物質である VPDB との差を千分率で表現する)が 小さくなる(δ^{13} C が-60 ‰以下).一方、さらに深層 の高温環境で有機物が熱分解してできた熱分解起源ガス はメタンに対するエタン・プロパン等の割合が高く、こ れらの δ^{13} C は元の有機物の値(δ^{13} C が約-30~-20‰)にいくらか近づく.そこで、天然ガス試料の炭化水 素ガス組成比(C_1/C_{2+} 、メタンに対するエタン以降の 炭化水素ガスのモル比)とメタン δ^{13} C との関係をダイ ヤグラム化したもの(Bernard プロット)が、ガス起 源の推定に広く利用されている(Bernard et al., 1976).

図2はバイカル湖の天然ガスの文献値から代表的なも のをピックアップし、Bernard プロットにまとめたも のである. Kalmychkov et al. (2006) は, バイカル湖の 各地で得られた天然ガス試料のC₁/C₂₊とメタンδ¹³C との関係をまとめ、微生物起源ガス ($C_1/C_{2+} > 1000$, $C_1 \delta^{13}C < -60 \%$),有機物の熱分解起源ガス ($C_1/C_{2+} <$ 100, C₁ S¹³C>-55 ‰), 両者間の混合ガス, およびマ ントル起源・マグマ起源とも言うべき非生物起源ガス $(C_1/C_{2+}>1000, C_1\delta^{13}C<-30\%)$ に分類した. 中央湖 盆と南湖盆の間にはセレンガ川が作り出した巨大なデル タ地帯とその堆積物が存在し, 典型的な微生物起源ガス を包接したガスハイドレートが周辺域で得られている (Hachikubo et al., 2010). また, 中央湖盆では熱分解 起源ガスがハイドレートに含まれ、エタン濃度が増加す ることで後述する結晶構造II型出現の遠因となってい る.図2の縦軸は対数となっているため、微生物起源ガ スと熱分解起源ガスとの混合ラインは下に凸のカーブを 描く. 非生物起源ガスは無機炭素化合物からの化学反応 (例えばフィッシャー・トロプシュ型反応) によって生 成すると考えられ,メタン ♂13℃ の大きいことが特徴で ある. 堆積物のほとんどない海底熱水系, ないしある種 の火成岩・変成岩中にみられるガスが代表的であるが、 バイカル湖はユーラシアプレートとアムールプレートの 境界にあって現在も広がりつつある、言わば地球の「裂 け目」であることから、このようなガスが存在しても不 思議ではない.非生物起源ガスを包接したガスハイド レートとしては、沖縄トラフの伊是名海穴熱水域で見つ かった CO₂ ハイドレートが挙げられ, ヘリウムの同位 体比からマグマ起源のCO2であると考えられる (Sakai et al., 1990).炭化水素系では未発見とは言え, バイカル湖北湖盆から中央湖盆にかけての湖岸の温泉域 でメタンδ¹³Cの極端に大きなガスが湧出しており (Kalmychkov et al., 2006), 今後発見される可能性は十 分高い.地球上でみられる,あらゆる起源の炭化水素ガ



図2:バイカル湖天然ガスの Bernard プロット. Malenky, Bolshoy, Malyutka, Peschanka, Goloustnoye, Kukuy K-0, K-2 は各泥火山 (MV: mud volcano) ないしガス湧出域 (Seep) で産する天然ガスハ イドレートの解離ガス (Hachikubo et al., 2010). Gorevoy Utes はオ イル湧出域で産する天然ガスハイドレートの解離ガス (Khlystov et al., 2007). Frolikha, Kotelnikovsky, Zmeinaya, Goryachinsk lå 湖底ないし陸上の温泉域で産する天然ガス(Kalmychkov et al., 2006). 灰色の線は微生物起源ガス・熱分解起源ガス両者の混合線. Fig. 2: Bernard plot for natural gas in Lake Baikal. Hydratebound gases (MV Malenky, MV Bolshoy, MV Malyutka, MV Peschanka, Seep Goloustnoye, MVs Kukuy K-0 and K-2, Oil seep Gorevoy Utes) and natural gas obtained at the hotsprings (Frolikha, Kotelnikovsky, Zmeinaya, Goryachinsk), from the dataset available in the literature (Kalmychkov et al., 2006; Khlystov et al., 2007; Hachikubo et al., 2010). A line (light gray) shows the mixing line between microbial and thermogenic gases.

スが存在するバイカル湖の天然ガスの多様性には驚かさ れる.

4. バイカル湖の天然ガスハイドレートのゲスト ガス

南湖盆の Malenky 泥火山は,2000 年にバイカル湖で 表層型ガスハイドレートが初めて採取された地点である (図1). Malenky のガスハイドレートは結晶構造 I 型 であり(Takeya et al., 2005),ゲストガス中の炭化水 素ガス組成はメタンが 99.99%以上,メタンの ♂¹³C は VPDB スケールで約-66 ‰,エタンのそれは約-39 ‰ であることから,微生物起源ガスに僅かに熱分解起源ガ スが混入したものと判断される(Hachikubo et al., 2010).近隣の泥火山(Bolshoy, Malyutka)で得られ たガスハイドレートのゲストガスもほぼ同様のガス組 成・安定同位体比であり,メタン主体のいわゆるメタン ハイドレートである.

バイカル湖の天然ガスハイドレートのゲストガスは, Malenky 泥火山の試料と同様,メタンを主体とした微 生物起源ガスである場合が多く,これにエタンを含む熱 分解起源ガスの混入した混合ガスが幾つかの地点でみら れる.図3はメタン・エタンの *S*¹³C をそれぞれ両軸に とったグラフであり (Milkov, 2005),図2と同様に文 献値をプロットした.微生物起源ガスと比較して,熱分

解起源ガスはエタンを桁違いに多く含むことから、微生 物起源ガス・熱分解起源ガスの混合ラインは図のように L字型となる. 南湖盆の Peschanka P-2 泥火山ではメ タン・エタンともに S¹³C が-60 ‰以下であり, 微生物 起源ガスの端成分とみられる.同じ南湖盆の Malenky, Bolshoy, Malyutka 泥火山では熱分解起源ガスは僅か に混入し、その混入割合は南湖盆東岸の Goloustnove ガス湧出域,中央湖盆のKukuy K-2 泥火山の順に急激 に増加する.中央湖盆北部に位置する Gorevoy Utes オ イル湧出域ではその名の通り、湖底から原油が滲み出て いる様子が MIR 潜水艇による潜水調査で確認されてい る (Khlystov et al., 2012). メタン・エタンの δ^{13} C は それぞれ約-44%,約-23%であり(Khlystov et al., 2007),バイカル湖における熱分解起源ガスの端成分で ある. Gorevoy Utes で得られた湖底堆積物コア中のガ スハイドレートにも原油が混じっているため, 当初は結 晶構造Ⅱ型やH型の存在が期待された.しかしながら, Khlystov et al. (2012) によれば結晶構造は I 型であり, C_1/C_2 比は 584 であることから、メタン・エタン系とし てみてもエタン組成はII型を作るほど高くない. Gorevoy Utes でなぜエタン以降の炭化水素が少ないのか, については今後解明すべき疑問の一つとして残されてい る.



図3: バイカル湖ハイドレート解離ガスのメタン δ^{13} C とエタン δ^{13} C との関係. 起源の分類は Milkov (2005) に基づく. データセットは Khlystov et al. (2007) および Hachikubo et al. (2010). 灰色の線は微生 物起源ガス・熱分解起源ガス両者の混合線.

Fig. 3 : Relation between δ^{13} C of methane and ethane, based on the classification of Milkov (2005), from the dataset available in the literature (Khlystov et al., 2007; Hachikubo et al., 2010). A line (light gray) shows the mixing line between microbial and thermogenic gases.

5. バイカル湖における結晶構造Ⅱ型の発見とその成因に関する議論

2005 年に中央湖盆の Kukuy K-2 泥火山で得られた表 層型ガスハイドレート(Khlystov, 2006)は、後に極め て特異な産状であることが判明した. 堆積物コア中のガ スハイドレートの上層は直径数 mm の粒状の結晶の集 合体であり, 下層は層状ないし塊状の結晶である(図 4). ゲストガス中のエタン組成は上層で13.4%,下層 で約2.6%であり(Kalmychkov et al., 2006), 前述の Subramanian ほかの結果に照らし合わせれば、上層は 結晶構造 II 型であると推定された.その後,NMR (Kida et al., 2006; 2009) によって上層・下層の結晶構造 がそれぞれII型・I型であることが証明され、その後の PXRD (Manakov et al., 2007) およびラマン (Hachikubo et al., 2012)の測定結果もこれを裏付けている. このような、同一の堆積物コア中に異なる結晶構造・ガ ス組成のハイドレートが共存している産状はバイカル湖 では決して稀ではなく, Kukuy K-2 泥火山で少なくと も11コア, その他にも Kukuy K-4・K-10の両泥火山, さらに遠く離れた南湖盆の PosolBank シープ(ガス湧 出域)で相次いで見つかっていることから(Khlystov et al., 2012), 何らかの普遍的な生成機構が存在すると 考えられる.

上層のII型と下層のI型のどちらが先に生成したの か,については以下の2つのモデルが提出されている. Hachikubo et al. (2009)は、上層のII型ハイドレートが 先に生成し、のちに下層のI型ハイドレートが生成し た、との仮説を提示した(図5).メタン・エタン混合 ガス系ではエタン組成が大きいほど平衡圧が低いため、 同じ温度・間隙水溶存ガス分圧の下ではエタンに富む混 合ガスハイドレートの核生成頻度が高く,かつ生成速度 も速いはずである. 堆積物下層からのガス供給について は不明な点が多いものの, 生成速度との兼ね合いで相対 的に供給が追いつかない、すなわち間隙水中に取り残さ れたガスがエタンに乏しくなることで, エタン組成が約 14%のⅡ型ハイドレートの生成過程から、同数%程度の I型ハイドレートの生成過程に不連続に移行した、と考 えられる. 2006年に採取された 2006St2GC30 コアで は、II型ハイドレートの下層に1m以上の長さにわた るI型ハイドレートの垂直構造が観察されており、ゲス トガスのエタン組成は深さ方向に対して3.2%から 1.4%に減少していた. 図2からも分かるように,Ⅱ型 ハイドレートの解離ガスの C1/C2+ は約6 で一定してい るのに対し、I型ハイドレートのそれは13~80とばら ついていて、I型のエタン濃度は幅が広いことを示して いる.また、メタン・エタンについてはガスハイドレー ト生成時のゲストガス安定同位体分別の存在が知られて いて (Hachikubo et al., 2007), ハイドレート相には CH₃D・C₂H₅Dが僅かながら取り込まれにくい傾向が ある. Kukuy K-2 泥火山のII型ハイドレートのエタン SDはⅠ型ハイドレートのそれと比較して10-20‰程度 小さく (C,H₅D が少ない), II型ハイドレートから先に 生成して軽いエタンを先にハイドレート相に固定し,後 に生成した I 型ハイドレートには残りの重いエタンが濃 集したと考えられる.

一方, I型ハイドレートが先に生成し,後にその上層 にII型ハイドレートが生成した,とする Manakov et al. (2007)の仮説は,両者間のおおまかなガス組成の関 係からみると妥当に思われる.エタン組成が 2-3%の I



図4: バイカル湖中央湖盆 Kukuy K-2 泥火山で採取された 2006St2GC30 湖底表層堆積物コア.湖底より 95 cm 深およ び 120 cm 深付近に粒状の結晶構造 II 型ガスハイドレート が,その直下からは塊状ないし脈状の結晶構造 I 型ガスハイ ドレートが存在する. Hachikubo et al. (2009)の図を一部改 変. cmblf は cm below lake floorの略.

Fig. 4: Photo of a section of sublucstrine sediment core 2006St2GC30 recovered from the MV Kukuy K-2, Lake Baikal (Hachikubo et al., 2009). Granular sII gas hydrates locate at 95cmblf and 120cmblf. Massive or vain like sI gas hydrates locate under the layer of sII. cmblf: cm below lake floor.

型ハイドレートの一部が何らかの理由で解離したとする と、その解離過程が急激であれば、エタン組成 2-3%の 混合ガスが間隙水溶存ガスないしガス気泡となって周辺 にそのまま放出される.このメタン・エタン混合ガスか ら新たにハイドレートが形成される際には、さらにエタ ンが濃縮されてエタン組成が 15%近くに達すると予想 される.Poort et al. (2012) は Kukuy K-2 泥火山周辺の 熱流量測定を行ない、熱流量の複雑な空間分布が深部か らの流体(水・ガス)とその流路を塞ぐガスハイドレー ト生成との相互作用によるものであると結論した.ガス 湧出がハイドレート生成によって妨げられれば別の湧出 経路を作ると考えられ、ガス供給の乏しくなったハイド レートは解離し、エタンに富むハイドレートが二次的に 生成した可能性がある。

なお,圧力条件は全く異なるが,熱量計を用いた室内 実験で興味深い結果が得られている(Hachikubo et al., 2008).メタン・エタン混合ガスハイドレート試料を人 工的に生成し,93Kの真空状態から0.15K min⁻¹の昇 温速度でこの試料を加温すると、オリジナルの混合ガス ハイドレートが解離し終わる頃にもう一つの解離ピーク が現れる(図6).熱流量データは吸熱方向を示し,解 離ガス中のエタン濃度が急激に上がり,閉鎖系である試 料容器内圧がさらに上昇することから、この現象はメタ ン・エタン混合ガスハイドレートの解離にともなう、さ らにエタンリッチな混合ガスハイドレートの二次生成と その解離であると結論される.以上の室内実験は比較的 低圧下での温度上昇によるものだが、10 MPa 程度の高 圧下で溶存ガス濃度を下げることで同様の現象を確認で きれば, Manakov 説を支持する有力な実験的証拠にな りうる.

6. バイカル湖でメタン・エタン系がみられる理由

天然ガスを構成する炭化水素の中で結晶構造Ⅱ型(大 ケージ)に取り込まれる成分としては、プロパンやイソ ブタン、ノルマルブタンなどが考えられ(ただし、ノル マルブタンについては小ケージを占有するヘルプガスが 必要),結晶構造Ⅱ型であると確認されているメキシコ 湾やバンクーバー島沖, マルマラ海のガスハイドレート には、これらの成分が少なくとも1%程度、多い成分で は20%近くも含まれている. その他, カディス湾 (Mazurenko et al., 2002), カスピ海 (Ginsburg and Soloviev, 1998)の両試料も典型的な熱分解起源のガス 組成であり、結晶構造Ⅱ型であると推定される.実際に ハイドレートのケージに入っているかどうかは疑問が残 るが、イソペンタン、ノルマルペンタンの報告もある. 詳細については,2005年頃までの天然ガスハイドレー トのガス情報に関する文献を網羅した Milkovのレ ビューを参照されたい (Milkov, 2005).

しかしながら,バイカル湖でこれまでに発見されてい る結晶構造 II 型のガスハイドレートは例外なく,エタン 組成が 13-15%程度で残りのほとんどはメタン,言わば メタン・エタン混合ガスハイドレートである.Kukuy K-2 泥火山の II 型ハイドレートの解離ガスに含まれるプ ロパンは 300 ppm 以下であり(Hachikubo et al., 2010),エタンと比較するとわずか 500 分の 1 に満たず, ブタン以降はさらに少ないとみられる.メタン δ^{13} C は 約-58 ‰,エタン δ^{13} C は約-27 ‰ であり,前述の



図5:バイカル湖中央湖盆 Kukuy K-2 泥火山の結晶構造 I 型・II 型が共存するガスハイド レートに関する生成モデル(Hachikubo et al., 2009). エタン組成3%の間隙水溶存ガスか ら結晶構造 II 型ガスハイドレート(エタン組成14%)の核生成が起き,低い平衡圧のため急 激に成長が進み,間隙水溶存ガスのエタン組成はII 型を生成する下限である0.6-0.8%(Subramanian et al., 2000b)まで低下する.その後,結晶構造 I 型ガスハイドレート(エタン 組成4%)が成長し始め,比較的高い平衡圧のためゆっくりと成長する.エタンはハイド レート相に固定されやすいために,間隙水溶存ガスおよび結晶構造 I 型ガスハイドレートの エタン組成はともに次第に減少していき, I 型のエタン組成は結果的に II 型よりも広い範囲 にわたる(図2).

Fig. 5 : Schematic model of the formation process of double structure gas hydrates in Kukuy K-2 mud volcano, Lake Baikal (Hachikubo et al., 2009). Nucleation of sII hydrate $(14\%C_2)$ occurred from dissolved gas in pore water $(3\%C_2)$ due to low equilibrium pressure. The C₂ concentration of dissolved gas was hereby reduced below the critical concentration of 0.6–0.8%C₂ to form sII hydrates (Subramanian et al., 2000). As a result, sI hydrate $(4\%C_2)$ started to form, but this time more slowly due to the rather high equilibrium pressure. Because both C₂ concentrations of sI hydrate phase, the range of C₂ compositions in sI hydrate became larger than those in sII hydrate as shown in Fig. 2.



図6:熱量計を用いて測定された,人工メタン・エタン混合ガスハイド レート(エタン組成41.3%)の解離過程(Hachikubo et al., 2008).縦 軸(heat flow)は負方向に試料の吸熱を表す. −180°Cから室温まで, 0.15°C min⁻¹の昇温速度で試料の温度制御を行なった.バルクの試料の エタン組成が41.3%であるにもかかわらず,最初に解離して出てきたガ スはメタンに富み,解離ガスのエタン組成は温度とともに増加する.ガ スハイドレートの最初の解離ピークではエタン組成が5-20%であるが, 二次ピーク出現とともに70%近くまで急激に増加する.

Fig. 6 : Heat flow and C₂ concentration changes plotted against temperature (Hachikubo et al., 2008). Dissociation process of synthetic mixed-gas (composition: $58.7\%C_1$ and $41.3\%C_2$) hydrate was observed by using a calorimeter. Temperature of the sample was controlled from -180° C to room temperature at a rate of 0.15° C min⁻¹. Although the C₂ concentration for total dissociation gas must be $41.3\%C_2$, C₁-rich gas first generated and the C₂ concentration of the dissociated gas increased with temperature. In the first peak of dissociation the C₂ concentration increased gradually from $5\%C_2$ to $20\%C_2$, and then rapidly increased and reached to $70\%C_2$ in the second peak of dissociation.
Malenky 泥火山のガスと比較すると、微生物起源ガス に対する熱分解起源ガスの混入割合はかなり高く, エタ ンはほぼ全量が熱分解起源である.それでは,元々存在 したはずの熱分解起源プロパンがどこに消えてしまった のか,謎が残る. Kalmychkov et al. (2011) は,中央湖 盆の Novosibirsk, Kukuy K-1, K-8, K-10 の各泥火山 のハイドレート解離ガス中に含まれるプロパンの δ¹³C が極端に大きく、結晶構造II型の存在する K-10 泥火山 では+8%にも達することを指摘し、微生物による軽い プロパン分子の選択的分解(biodegradation)が原因で あると推定している. このような例は日本国内の天然ガ ス田でも見受けられ(早稲田ほか, 2002), プロパン等 を選択的に酸化分解する微生物の存在が指摘されてい る. 嫌気的環境下において、メタン生成菌の活動と同時 に別の微生物によって炭化水素が酸化分解されるのであ れば,その酸化剤は一体何であるのか,嫌気条件での酸 化とはどのようなものであるのか,疑問の種は尽きな い.微生物学的視点からの研究の進展が待たれる.

関連して,プロパンだけでなくエタンすら数100 ppm しか存在しないにもかかわらず, ハイドレート解離ガス のメタン・エタン δ¹³C が典型的な熱分解起源ガスの領 域にある例として、日本海上越沖(門澤ほか、2006;松 本ほか, 2009; Hachikubo et al., 2011), ガテマラ沖中 央アメリカ海溝(Kvenvolden and McDonald, 1985)の 2つが挙げられる.熱分解起源ガス成分のうち、メタン に対してプロパンだけでなくエタンも極端に少なくなっ ている理由として,熱分解起源ガスが海底堆積物深部か ら上昇する際に分別が起こり、分子量の小さいメタンの みが選択的に海底表層まで到達している可能性(Lorenson et al., 1999), エタン以上の炭化水素ガスが地層中 の吸着作用によりトラップされるジオクロマト効果の存 在(早稲田・岩野, 2007),比較的高温の海底堆積物深 部においてエタンリッチなハイドレートとして固定され ている可能性(松本ほか,2009),などいろいろ考えら れているが,確固たる結論は出ていない.八久保ほか (2012)は、日本海上越沖の天然ガスハイドレート採取 地点付近にて長さ約40mの堆積物コアのガス分析を実 施しているが、下層に向かってエタン・プロパンが増加 している証拠は得られていない. そもそも, 堆積層深部 でこれらが分離・固定され続ければ, 地底はエタン・プ ロパン (のハイドレート?) でいつか溢れかえることに なる.我々は、上記のような何らかの過程でエタン・プ ロパンがトラップされ始めた,非定常状態の瞬間を見て いるのであろうか?

一方で、レイリー分別蒸留の例で明らかなように、同 位体分別過程における安定同位体比の値自体は相対的に 変化しうるため、同位体比の絶対値のみでガス起源を断 定することに警鐘を鳴らす向きもある. Pohlman et al. (2009) によれば、バンクーバー島沖の深層掘削(IODP Expedition 311)で得られた炭素同位体比約-40‰の メタンは熱分解起源ではなく、炭素同位体比の極端に大 きい CO₂ から微生物による CO₂ 還元によって作られた もの、と結論づけている.微生物が CO₂ から δ^{13} C の小 さいメタンを作り続ければ、残り物の CO₂ の δ^{13} C は相 対的に大きくなっていく.つまり、これまではメタン δ^{13} C から熱分解起源と結論されたケースでも、エタン やプロパンが少なく、原材料の関係でたまたまメタン δ^{13} C が大きい、そういった微生物起源ガスである可能 性も慎重に検討しなければならない.このように、結晶 構造 II 型やH型を作る原因となるような、熱分解起源ガ ス中の大きな炭化水素分子の行方は今後の大きな研究課 題であるが、安定同位体比そのものの解釈については今 後とも十分注意を払う必要があり、結論が大きく変わる かもしれない.

7. おわりに

「地の底,海の果てには何があるか分からない」,とは 中谷宇吉郎の言葉である.バイカル湖の底にこれほど多 様な種類・起源の天然ガスが存在し,これらが複雑に入 り交じりつつ,湖底堆積物中に結晶構造の異なる天然ガ スハイドレートを生成している事実は驚くべきことであ る.ガスハイドレートの材料である天然ガスに関して は,堆積物中のガス生成・変質過程において不明な点が 多く,どうやら微生物プロセスが解明の鍵を握っている ものと思われる.海底・湖底の「雪氷」である天然ガス ハイドレートが,物理学・化学・地質学だけでなく生物 学も合わせて総合的に解明すべき研究対象であることを 強調したい.

謝辞

本稿をまとめるにあたり,調査船G.Yu. Vereshchagin 号の乗組員,乗船研究者・学生の皆様にはお世 話になりました.低温科学特集号「氷の物理と化学研究 の新展開(仮題)」に総説論文の執筆の機会を与えてい ただいた,北海道大学低温科学研究所の佐﨑元氏,古川 義純氏,および北海道大学大学院工学研究院の内田努氏 に,この場を借りて篤く御礼申し上げます.

参考文献

- Bernard, B. B., J. M. Brooks, and W. M. Sackett (1976) Natural gas seepage in the Gulf of Mexico. *Earth Planet. Sci. Lett.*, **31**, 48–54.
- Bourry, C., B. Chazallon, J. L. Charlou, J. P. Donval, L. Ruffine, P. Henry, L. Geli, M. N. Çagatay, S. İnan, and M. Moreau (2009) Free gas and gas hydrates from the

Sea of Marmara, Turkey. Chemical and structural characterization. *Chem. Geol.*, **264**, 197–206. doi:10.1016/j. chemgeo.2009.03.007

- Brooks, J. M., M. C. Kennicutt II, R. R. Fay, T. J. McDonald, and R. Sassen (1984) Thermogenic gas hydrates in the Gulf of Mexico. *Science*, 225, 409-411.
- Chapman, N. R., J. W. Pohlman, R. B. Coffin, J. P. Chanton, and L. Lapham (2004) Thermogenic gas hydrates in the northern Cascadia Margin. *EOS*, **85**, 361–365.
- Cuylaerts, M., L. Naudts, R. Casier, A. V. Khabuev, O. V. Belousov, E. E. Kononov, O. Khlystov, and M. De Batist (2012) Distribution and morphology of mud volcanoes and other fluid flow-related lake-bed structures in Lake Baikal, Russia. *Geo-Mar. Lett.*, **32**, 383–394, doi: 10.1007/s00367-012-0291-1
- Davidson, D. W., S. K. Garg, S. R. Gough, Y. P. Handa, C. I. Ratcliffe, J. A. Ripmeester, J. S. Tse, and W. F. Lawson (1986) Laboratory analysis of a naturally occurring gas hydrate from sediment of the Gulf of Mexico. *Geochim. Cosmochim. Acta*, **50**, 619–623.
- Ginsburg, G. D., and V. A. Soloviev (1998) *Submarine Gas Hydrates.* VNIIOkeangeologia, St. Petersburg, Russia, 216pp.
- Hachikubo, A., T. Kosaka, M. Kida, A. Krylov, H. Sakagami, H. Minami, N. Takahashi, and H. Shoji (2007) Isotopic fractionation of methane and ethane hydrates between gas and hydrate phases. *Geophys. Res. Lett.*, 34, L21502. doi:10.1029/2007GL030557
- Hachikubo, A., R. Nakagawa, D. Kubota, H. Sakagami, N. Takahashi, and H. Shoji (2008) Dissociation heat of mixed-gas hydrate composed of methane and ethane. *Proceedings of the 6th International Conference on Gas Hydrates*, 6–10 July, 2008, Vancouver, Canada. http:// hdl.handle.net/2429/2694
- Hachikubo, A., O. Khlystov, A. Manakov, M. Kida, A. Krylov, H. Sakagami H. Minami, N. Takahashi, H. Shoji, G. Kalmychkov, and J. Poort (2009) Model of formation of double structure gas hydrates in Lake Baikal based on isotopic data. *Geophys. Res. Lett.*, **36**, L18504. doi:10.1029/2009GL039805
- 八久保晶弘,木田真人,奥田充,坂上寛敏,庄子仁 (2009) メタン・エタンからなる混合ガスハイドレートの解離熱. 雪氷,71(5),341-351.
- Hachikubo, A., O. Khlystov, A. Krylov, H. Sakagami, H. Minami, Y. Nunokawa, S. Yamashita, N. Takahashi, H. Shoji, S. Nishio, M. Kida, T. Ebinuma, G. Kalmychkov, and J. Poort (2010) Molecular and isotopic characteristics of gas hydrate-bound hydrocarbons in southern and central Lake Baikal. *Geo-Mar. Lett.*, **30**(3/4), 321–329. doi:10.1007/s00367-010-0203-1
- Hachikubo, A., H. Tomaru, and R. Matsumoto (2011) Molecular and isotopic characteristics of hydrocarbons in sediments and gas hydrate at eastern margin of Japan Sea. *Proceedings of the 7th International Conference on Gas Hydrates*, 17-21 July, 2011, Edinburgh, UK. http:// www.pet.hw.ac.uk/icgh7/papers/icgh2011Final00014.

pdf

- Hachikubo, A., O. Khlystov, M. Kida, H. Sakagami, H. Minami, S. Yamashita, N. Takahashi, H. Shoji, G. Kalmychkov, and J. Poort (2012) Raman spectroscopic and calorimetric observations on natural gas hydrates with cubic structures I and II obtained from Lake Baikal. *Geo-Mar. Lett.*, **32**, 419-426, doi:10.1007/s00367-012-0285-z
- 八久保晶弘,柳川勝紀,戸丸仁,松本良(2012)日本海東縁 ガスハイドレート調査(MD179)で得られた海底表層堆 積物中の間隙水溶存ガス分析.石油技術協会誌,77(4), 268-273.
- Kalmychkov, G. V., A. V. Egorov, M. I. Kuz'min, and O. M. Khlystov (2006) Genetic types of methane from Lake Baikal. *Dokl. Earth Sci.*, **411A**, 1462–1465.
- Kalmychkov, G. V., A. Hachikubo, A. V. Egorov, O. M. Khlystov, and T. M. Zemskaya (2011) Geochemical characteristics of Lake Baikal methane. Proceedings of All-Russian Scientific Conference "Theoretical and practical aspects of studies of natural and artificial gas hydrates", Aug. 24-28, 2011, Yakutsk, Russia, 75-82.
- Khlystov, O. M. (2006) New findings of gas hydrates in the Baikal bottom sediments. *Russian Geol. Geophys.*, **47**, 979-981.
- Khlystov, O. M., A. G. Gorshkov, A. V. Egorov, T. I. Zemskaya, N. G. Granin, G. V. Kalmychkov, S. S. Vorob'eva, O. N. Pavlova, M. A. Yakup, M. M. Makarov, V. I. Moskvin, and M. A. Grachev (2007) Oil in the Lake of World Heritage. *Dokl. Earth Sci.*, **415**, No.5, 682–685. doi:10. 1134/S1028334X07050042
- Khlystov, O., M. De Batist, H. Shoji, A. Hachikubo, S. Nishio, L. Naudts, J. Poort, A. Khabuev, O. Belousov, A. Manakov, and G. Kalmychkov (2012) Gas hydrate of Lake Baikal: Discovery and varieties. J. Asian Earth Sci., in press. doi:10.1016/j.jseaes.2012.03.009
- Kida, M., O. Khlystov, T. Zemskaya, N. Takahashi, H. Minami, H. Sakagami, A. Krylov, A. Hachikubo, S. Yamashita, H. Shoji, J. Poort, and L. Naudts (2006) Coexistence of structure I and II gas hydrates in Lake Baikal suggesting gas sources from microbial and thermogenic origin. *Geophys. Res. Lett.*, 33, L24603. doi:10. 1029/2006GL028296
- Kida, M., H. Sakagami, N. Takahashi, A. Hachikubo, H. Shoji, Y. Kamata, T. Ebinuma, H. Narita, and S. Takeya (2007) Estimation of gas composition and cage occupancies in CH₄-C₂H₆ hydrates by CP-MAS ¹³C NMR technique. J. Jpn. Petrol. Inst., 50(3), 132–138.
- Kida, M., A. Hachikubo, H. Sakagami, H. Minami, A. Krylov, S. Yamashita, N. Takahashi, H. Shoji, O. Khlystov, J. Poort, and H. Narita (2009) Natural gas hydrates with locally different cage occupancies and hydration numbers in Lake Baikal. *Geochem. Geophys. Geosyst.*, **10**, Q05003. doi:10.1029/2009GC002473
- Klerkx, J., T. I. Zemskaya, T. V. Matveeva, O. M. Khlystov, B. B. Namsaraev, O. P. Dagurova, L. P. Golobokova, S. S. Vorob'eva, T. P. Pogodaeva, N. G. Granin, G. V. Kalmychkov, V. A. Ponomarchuk, H.

Shoji, L. L. Mazurenko, V. V. Kaulio, V. A. Solov'ev, and M. A. Grachev (2003) Methane hydrates in deep bottom sediments of Lake Baikal. *Dokl. Earth Sci.*, **393A**, 1342–1346.

- Kuz'min, M. I., G. V. Kalmychkov, V. F. Geletii, V. A. Gnilusha, A. V. Goreglyad, B. N. Khakhaev, L. A. Pevzner, T. Kawai, N. Yoshida, A. D. Duchkov, V. A. Ponomarchuk, A. E. Kontorovich, N. M. Bazhin, G. A. Makhov, Yu. A. Dyadin, F. A. Kuznetsov, E. G. Larionov, A. Yu. Manakov, B. S. Smolyakov, M. M. Mandel'baum, and N. K. Zheleznyakov (1998) The first find of gas-hydrates in the sedimentary rocks of lake Baikal. *Dokl. Earth. Sci.*, 362, 1029–1031.
- Kvenvolden, K. A. and T. J. McDonald (1985) Gas hydrates of the Middle America Trench- Deep Sea Drilling Project Leg 84. In: von Huene, R., Aubouin, J. (Eds.), Initial Reports of Deep Sea Drilling Project, 84, US Washington, Government Printing Office, 667-682.
- Lorenson, T. D., M. J. Whiticar, A. Waseda, S. R. Dallimore, and T. S. Collett (1999) Gas composition and isotopic geochemistry of cuttings, core and gas hydrate from the JAPEX/JNOC/GSC Mallik 2L-38 gas hydrate research well. *Geological Survey of Canada, Bulletin*, 544, 143–163.
- Lu, H., Y. Seo, J. Lee, I. Moudrakovski, J. A. Ripmeester, N. R. Chapman, R. B. Coffin, G. Gardner, and J. Pohlman (2007) Complex gas hydrate from the Cascadia margin. *Nature*, 445, 303–306. doi:10.1038/nature05463
- Makino, T., M. Tongu, T. Sugahara, and K. Ohgaki (2005)
 Hydrate structural transition depending on the composition of methane + cyclopropane mixed gas hydrate. *Fluid Phase Equilibria*, 233, 129–133.
- Manakov, A. Y., O. M. Khlystov, and A. G. Ogienko (2007) Unusual coexistence of cubic structure I and II natural gas hydrates in the same core mined at the K-2 mud volcano (Lake Baikal). paper presented at International Conference on Gas Hydrate Studies, Limnol. Inst., Russ. Acad. of Sci., Irkutsk, Russia, 3–8 September, 2007.
- 松本良,奥田義久,蛭田明宏,戸丸仁,竹内瑛一,山王梨 紗,鈴木麻希,土永和博,石田泰士,石崎理,武内里香, 小松原純子,A.F.Freire,町山栄章,青山千春,上嶋正 人,弘松峰男,G.Snyder,沼波秀樹,佐藤幹夫,的場保 望,中川洋,角和善隆,荻原成騎,柳川勝則,砂村倫成, 後藤忠則,廬海龍,小林武志(2009)日本海東縁,上越海 盆の高メタンフラックス域におけるメタンハイドレートの 成長と崩壊.地学雑誌,118(1),43-71.
- Matveeva, T. V., L. L. Mazurenko, V. A. Soloviev, J. Klerkx, V. V. Kaulio, and E. M. Prasolov (2003) Gas hydrate accumulation in the subsurface sediments of Lake Baikal (Eastern Siberia). *Geo-Mar. Lett.*, 23(3/4), 289–299. doi:10.1007/s00367-003-0144-7
- Mazurenko, L. L., V. A. Soloviev, I. Belenkaya, M. K. Ivanov, and L. M. Pinheiro (2002) Mud volcano gas hydrates in the Gulf of Cadiz. *Terra Nova*, **14**, 321-329.
- Milkov, A. V. (2005) Molecular and stable isotope compositions of natural gas hydrates: a revised global dataset and basic interpretations in the context of geological settings. *Org. Geochem.*, **36**, 681–702.

- 門澤伸昭,金子光好,大澤正博(2006)基礎試錐「佐渡南西 沖」の掘削結果に基づいた佐渡〜富山湾海域における石油 システムの考察.石油技術協会誌,**71**(6),618-627.
- Morita, K., S. Nakano, and K. Ohgaki (2000) Structure and stability of ethane hydrate crystal. *Fluid Phase Equilib.*, **169**, 167–175.
- Pohlman, J. W., M. Kaneko, V. B. Heuer, R. B. Coffin, and M. Whiticar (2009) Methane sources and production in the northern Cascadia margin gas hydrate system. *Earth Planet. Sci. Lett.*, 287, 504–512.
- Poort, J., O. M. Khlystov, L. Naudts, A. D. Duchkov, H. Shoji, S. Nishio, M. De Batist, A. Hachikubo, M. Kida, H. Minami, A. Y. Manakov, M. V. Kulikova, and A. A. Krylov (2012) Low thermal anomalies associated with double structure gas hydrates in K-2 mud volcano, Lake Baikal. *Geo-Mar. Lett.*, **32**, 407–417, doi:10.1007/s00367–012–0292–0
- Sakai, H., T. Gamo, E-S. Kim, M. Tsutsumi, T. Tanaka, J. Ishibashi, H. Wakita, M. Yamano, and T. Oomori (1990) Venting of carbon dioxide-rich fluid and hydrate formation in mid-Okinawa Trough backarc basin. *Science*, 248(4959), 1093–1096.
- Sassen, R., and I. R. MacDonald (1994) Evidence of structure H hydrate, Gulf of Mexico continental slope. Org. Geochem., 22, 1029–1032.
- Sassen, R., S. Joye, S. T. Sweet, D. A. DeFreitas, A. V. Milkov, and I. R. MacDonald (1999) Thermogenic gas hydrates and hydrocarbon gases in complex chemosynthetic communities, Gulf of Mexico continental slope. Org. Geochem., 30, 485-497.
- Shoji, H., and C. C. Langway (1982) Air hydrate inclusions in fresh ice core. *Nature*, **298**, 548-550.
- Sloan, E. D., and C. A. Koh (2007) Clathrate hydrates of natural gases. CRC Press, Boca Raton, FL.
- Subramanian, S., R. A. Kini, S. F. Dec, and E. D. Sloan Jr. (2000a) Evidence of structure II hydrate formation from methane + ethane mixtures. *Chem. Eng. Sci.*, 55, 1981– 1999.
- Subramanian, S., A. L. Ballard, R. A. Kini, S. F. Dec, and E. D. Sloan Jr. (2000b) Structural transitions in methane + ethane gas hydrates — part I: upper transition point and applications. *Chem. Eng. Sci.*, 55, 5763-5771.
- Takeya, S., T. Uchida, Y. Kamata, J. Nagao, M. Kida, H. Minami, H. Sakagami, A. Hachikubo, N. Takahashi, H. Shoji, O. Khlystov, M. Grachev, and V. Soloviev (2005) Lattice expansion of clathrate hydrates of methane mixtures and natural gas. *Angew. Chem.*, **117**, 7088-7091.
- Udachin, K. A., C. I. Ratcliffe, and J. A. Ripmeester (2002) Hydrate stcructure and composition from single crystal X-ray diffraction: examples of structure I, II and H hydrates. *Proceedings of the 4th International Conference on Gas Hydrates*, May 19–23, 2002, Yokohama, Japan, 604–607.
- Uchida, T., S. Takeya, Y. Kamata, I. Y. Ikeda, J. Nagao, T. Ebinuma, H. Narita, O. Zatsepina, and B. A. Buffett (2002) Spectroscopic observations and thermodynamic calculations on clathrate hydrates of mixed gas contain-

ing methane and ethane: determination of structure, composition and cage occupancy. *J. Phys. Chem. B*, **106**, 12426–12431.

Van Rensbergen, P., M. De Batist, J. Klerkx, R. Hus, J. Poort, M. Vanneste, N. Granin, O. Khlystov, and P. Krinitsky (2002) Sublacustrine mud volcanoes and methane seeps caused by dissociation of gas hydrates in Lake Baikal. *Geology*, **30**, 631-634.

- 早稲田周,岩野裕継,武田信從(2002)地球化学からみた天 然ガスの成因と熟成度.石油技術協会誌,67(1),3-15.
- 早稲田周,岩野裕継(2007)ガス炭素同位体組成による貯留 層評価.石油技術協会誌,**72**(6),585-593.

クラスレート水和物の分解と氷の結晶成長 ――自己保存現象のメカニズム――

竹谷 敏

2012年9月25日受付, 2012年11月17日受理

氷点下温度でのクラスレート水和物の分解は,分解によって放出される水分子の凝固により成長す る氷膜により抑制されると考えられ,クラスレート水和物の自己保存性と呼ばれている.この現象 は,分解時の温度・圧力履歴やゲスト分子の種類,さらには成長する氷の形態変化に依存することが 明らかになってきた.本稿では,自己保存性に関する最近の研究を紹介するとともに,そのメカニズ ムについて考察する.

Dissociation of clathrate hydrates and ice growth — Mechanism of self-preservation —

Satoshi Takeya

Dissociation process of clathrate hydrates is considered to be depressed due to formation of ice layer caused by the hydrate dissociation, which is called self-preservation phenomena. Recently, it has been clarified that the phenomena is depend on thermal and pressure history and type of guest molecules. In this paper, recent studies on the self-preservation phenomena are summarized and the mechanism of self-preservation is discussed.

1. はじめに

クラスレート水和物(ガスハイドレート)は包接化合 物の一種で、水分子がホストとなり、その水素結合ネッ トワークによって形成する多面体かご型構造(ケージ) 中に、メタンや二酸化炭素などの分子(ゲスト)を包接 する氷状の結晶である.高圧(~数 MPa)条件下,も しくは大気圧下においてはマイナス数十度以下の低温条 件で、体積の約100-170倍ものガスを貯蔵することが できる. ガスハイドレートはガスと水のみで構成される 結晶のため環境に優しく、メタンを主成分とする天然ガ スを包接する天然ガスハイドレートが新たな天然ガス資 源として注目されている.また,ガス貯蔵・輸送媒体と しての実用化に向けた研究も進められている. その結晶 構造は、I型(Pm 3 n), Ⅱ型(Fd 3 m), H型(P 6/ mmm)と呼ばれる3種類の結晶構造が良く知られてお り,水分子の12面体(512,435663),14面体(51262), 16 面体 (5¹²6⁴), 20 面体 (5¹²6⁸) の多面体ケージの組 合せにより構成されている (Sloan & Koh, 2008).

氷点下温度の大気圧下でガスハイドレートが分解する と、ゲスト分子は気相中に放出され水分子は氷へと変化

産業技術総合研究所 計測フロンティア研究部門

するが,一部のガスハイドレートは分解せずに長期間保 存される. ガスハイドレート粒子の外表面に氷膜が形成 されることによりガスハイドレートの分解が抑制される との予想から、この現象はガスハイドレートの自己保存 (self-preservation) と名付けられた (Yakushev & Istomin, 1992). 我々は, 温度一定条件でのメタンハイ ドレートの分解実験を行い、195K以下の低温領域のメ タンハイドレートの分解で、メタンハイドレートの分解 表面に形成される氷膜中のメタンガスのガス拡散により 分解速度が律速されるという,固体内拡散モデルを提案 した (Takeya e al., 2001, Takeya e al., 2002). Stern ら(2001)は、氷融点直下の特定温度領域においてメタ ンハイドレートの分解速度が極端に遅くなるという "anomalous preservation"を報告した.242 K-271 K の温度領域において生成条件圧力から大気圧まで急減圧 した場合(減圧法),242K以下の低温領域に比ベメタ ンハイドレートの分解速度が極端に遅くなるが,一方 で、大気圧下でもメタンハイドレートが安定な195K 以下の低温から昇温によりメタンハイドレートを分解さ せた場合(昇温法),その分解速度は温度上昇に伴って 単調に増加する.(図1)

その後,我々の昇温実験(150~250 K)では,温度 に依存して氷膜の形態が変化し,それに伴いメタンハイ

ドレートの分解速度が変化すること(Shimada et al., 2005)、メタンハイドレートの分解速度は試料の粒径サ イズに反比例することなどが明らかになった(Takeya et al., 2005). Kuhs ら (2004) は、メタンハイドレート 結晶から氷結晶へと変化する過程の中性子線回折法を用 いたその場観察を行い、240K以下の温度では、メタン ハイドレートの分解により立方晶氷(Ic)が形成され, Icは240K以上の温度で六方晶氷(Ih)に相転移する ことを明らかにした.一般に、Icの結晶中にはIhの結 晶中よりも多くの格子欠陥が含まれていることから, Kuhs らは,240 K 以下の温度では Ic 中の格子欠陥中を メタンガスが拡散することにより比較的早い分解が生じ るのに対し,240 K以上で Ic から Ih に相転移すること により氷膜中の格子欠陥が減り, ガス拡散が抑制され分 解速度が遅くなると考えた.我々やKuhsらの研究は、 分解速度低下の原因は異なるものの,何れも固体内拡散 モデルに応用可能な現象であった.しかし、Sternらに より報告された "anomalous preservation" は固体内 拡散モデルで説明できるものではなく、この現象の理解 のためには, 更なるメカニズムの検討が必要とされてい た(竹谷2005).

最近の研究から,氷点下温度でのガスハイドレートの 分解のメカニズムに関し,ゲスト分子の種類や温度・圧 力履歴とガスハイドレートの分解挙動との相関等,多く の新たな知見が得られてきた.ここでは,我々の研究の 進展を中心に紹介するとともに,これまでに報告された 研究成果に基づき,氷点下温度において発現するガスハ イドレートの "anomalous preservation" のメカニズ ムを検討する.

2. ガスハイドレートの分解挙動

2.1 ガス種依存性

Handa (1986) は、キセノンハイドレート、クリプ トンハイドレートの熱量測定実験により、氷点下温度で のガスハイドレートの分解過程で、ガスハイドレートの 分解によって形成される氷により、ガスハイドレートの 分解が抑制され、氷が融解して水になるまで一部のガス ハイドレートが保存されることを示した.実験結果に基 づき、氷中にガスハイドレートが保存された状態では、 氷が圧力容器の働きをし、解離圧以下の大気圧下におい てもガスハイドレートの分解が抑制されると考えられ た.また、Hallbrucker & Mayer (1990) は、水蒸気 蒸着法で生成したアモルファス氷から窒素、酸素、一酸 化炭素、アルゴンハイドレートを生成し、形成されたガ スハイドレートの一部は氷の融点近傍まで分解せずに保 存されることを示した.

ガスハイドレートの分解挙動がゲスト分子の種類によ り違いがあることは、Stern らにより初めて示された. Stern ら (2003) は、メタンハイドレートの "anomalous preservation" が出現したのと同じ実験方法で、メ タン+エタン混合ガスハイドレートの分解実験を行っ た.メタン+エタン混合ガスハイドレートは、解離圧が メタンハイドレートよりも低く、メタンハイドレートよ りも安定で分解しにくいはずであるにも関わらず、(図 2)メタンハイドレートのような "anomalous preservation" 現象は発現しなかった. Takeya & Ripmeester (2008) は、表1に示すような多くの種類の微粉末 状のガスハイドレートに関し、常圧の乾燥窒素雰囲気下 で、粉末X線回折法による昇温法での分解実験を行っ た.興味深いことに、解離圧が高い種類のガスハイド



図1: Stern らにより測定された常圧メタンガス雰囲気におけるメタンハイド レートの分解速度の温度依存性 242 K-271 K の温度領域がメタンハイドレートの "Anomalous preservation"領域 (Stern et al., 2001 をもとに作成)



図2:メタン,エタン,プロパンハイドレートの相図 図中の灰色の部分は,ガスハイドレートが安定に存在しない 領域を示している

レートは昇温過程で分解が抑制されるのに対し,解離圧 が低い種類のガスハイドレートは200-220 K 程度の低 温温度領域ですぐに分解してしまうことが明らかになっ た.この結果は,ガスハイドレートの分解を抑制する要 因は,熱力学的な安定性や結晶構造に依存するものでは ないことを示している.一方,メタンなどの分解速度が 抑制されるガスハイドレートだけでなく,エタン,プロ パンなどの容易に分解するガスハイドレートも同様に, 200 K 付近の温度領域での分解にともない氷 Ic が形成 された.一般に,低温 (130~150 K)で水蒸気を凝結 すると氷 Ih ではなく Ic ができる.ガスハイドレートか ら氷 Ic ができる場合は,この温度領域よりも若干高温 側であるものの,ガスハイドレートの分解に伴い,低温 で水分子が凝結するために氷 Ic の生成が確認された (Takeya & Ripmeester, 2008). もし, Kuhs らが考え たように氷 Ic 相から Ih 相への相転移により分解速度が 遅くなるのであれば,全てのガスハイドレートにおいて も "anomalous preservation"現象が観察されるはず である.従って,氷 Ic から Ih への転移は,240 K 以上 の温度で特異的に生じる "anomalous preservation" の直接の要因とは言えない.

2.2. 温度·圧力履歴依存性

Stern ら (2003) は, クライオチャンバーを装備した 走査型電子顕微鏡 (SEM) で "anomalous preservation" を発現したメタンハイドレートを観察し, 表面が 非常に緻密な氷膜で覆われていることを報告した. Falenty & Kuhs (2009) は, 様々な温度圧力条件下で 分解した炭酸ガスハイドレート表面の様子をクライオ SEM で観察するとともに, 中性子線回折実験によるガ スハイドレートの分解率との比較を行い, 240 K以上の 温度領域で自己保存された二酸化炭素ハイドレート表面 は, 分解初期に形成された氷の焼結により緻密な氷膜で 覆われており, 試料の切断面の観察により, 氷膜の膜厚 は僅か数 μm 程度の場合もあることを明らかにした.

Takeya & Ripmeester (2010) は,高圧セルを設置 したX線回折装置を用い,高純度のガスハイドレート試 料を高圧セル中で生成し,高圧容器の中から試料を取り 出すことなく,X線回折法によるガスハイドレートの分 解実験を行った.図2においてA→B→Dの手順で温度 圧力条件を変化させた場合(減圧法),エタンおよびプ ロパンハイドレートや,メタン+エタン混合ガスハイド

表1: ガスハイドレートの自己保存性のガス種依存性 表中で, P_d は273 K でのガスハイドレートの解離圧を示す. T_m , T_b はゲスト分子の融 点, 沸点, また, 体積と最長径は, ゲスト分子のサイズを示す. 表中で, 自己保存性を 示さないものは \odot , 自己保存性を示すものは \bigcirc で示している. ただし, CF₄ は自己保存 性を200 K 付近のみで示した. (Takeya & Ripmeester (2008)をもとに作成)

Guest	Self- preservation	P _d [MPa] at 273 K	Structure	$T_m / T_b [K]$	Volume $[Å^3] / Max length [Å]$
H_2S	•	0.1	sI	188 / 213	25.2 / 3.8
CH₃F	0	0.2	sI	131 / 195	33.5 / 4.7
$\mathrm{CH}_{2}\mathrm{F}_{2}$	•	0.2	sI	137 / 221	38.9 / 5.2
Xe		0.2	sI	161 / 165	42.2 / 2.2
$C_{3}H_{8}$	•	0.2	sII	85 / 231	62.4 / 6.7
CHF₃	•	0.3	sI	118 / 191	42.9 / 5.2
C_2H_6	•	0.5	sI	90 / 185	45.6 / 5.6
CO_2	0	1.2	sI	195 (Sublimation)	33.3 / 5.4
Kr	0	1.5	sII	116 / 120	34.5 / 2.0
CH_4	0	2.5	sI	91 / 112	28.6 / 4.3
CF_4	Δ	4.2	sI	89 / 145	49.4 / 5.3
Ar	0	10.5	sII	84 / 87	27.8 / 1.9
O_2	0	11.9	sII	55 / 90	20.6 / 3.9
N_2	0	15.9	sII	63 / 77	21.7 / 3.9

レートではメタンハイドレートのような "anomalous preservation″現象は観測されなかった.一方,メタン ハイドレートが減圧法で "anomalous preservation" 現象が発現する際、メタンハイドレートの分解に伴い、 氷融点直下の温度域では、氷のベーサル面(002)が優 先的に広がっていくことが明らかになった.(図3)さ らに、氷融点直下の270.5Kで減圧法により分解が抑 制されたメタンハイドレート表面の氷膜の厚さは、僅か 100 µm 程度以下であることが斜入射X線回折測定によ り分かった.一方,エタンやプロパンハイドレート,メ タン+エタン混合ガスハイドレートでは、熱力学的な安 定性はメタンハイドレートよりも高いのにもかかわら ず,大気圧まで減圧すると,すぐに分解し氷へと変化し た.また、メタンハイドレートの場合のような異方的な 成長は観察されなかった.以上の結果から、ガスハイド レートの分解に伴い成長する氷の形態が, ガスハイド レートのガス種によって変化するということ、この時、 減圧法によりガスハイドレートの分解を抑制するために は、僅か100μm程度以下の氷膜で十分であることが分 かった.

ここで, 氷融点直下の気相における氷(雪)の成長や 形態変化について考えてみる. 単結晶氷(雪)の晶癖変 化は中谷ダイヤグラム(中谷1938)、その後の小林ダイ ヤグラム(Kobayashi, 1961)として,氷の晶癖が温度 と氷に対する水蒸気の過飽和度で分類されている.低過 飽和状態では、273 K~269 K では六角板状に成長し、 269 K~263 K では細長い六角柱状, 263 K~251 K では 再び六角板状、251 K 以下では再び六角柱状となる、過 飽和度が増大するにつれ、氷結晶の角等が優先的に伸び 始め、樹枝状結晶などが出現する. では、Takeya & Ripmeester (2010)の実験結果と氷の晶癖変化とをあ わせて考えると、メタンハイドレートの場合は、メタン ハイドレートの分解速度が小さく、ガスハイドレートか ら気相への水分子の供給は少ないので低過飽和度での氷 成長と考えられる. また, エタン, プロパンハイドレー トの場合は分解速度が大きいため, 高過飽和度での氷成 長と考えられる.実際、分解速度が大きければ、ガスハ イドレート結晶から水分子が放出される量が多くなり, 樹枝状結晶のような結晶が成長しやすくなるということ と、エタン等のガスハイドレートの粉末X線氷回折の結 果が異方性を示していないことは矛盾しない、また、メ タンハイドレートの場合,氷のベーサル面が卓越してい る.これは、メタンハイドレートの分解表面に沿って、 氷のベーサル面が卓越した六角板状結晶が成長している



図3: ガスハイドレート結晶から氷結晶へと変化する過程の時分割X線回 折プロファイル (a) メタンハイドレート(b) メタン+エタン混合ガスハイドレート (CH₄: C₂H₆=42.5:57.5) 268 K,窒素雰囲気の常圧での2分毎の測定,図中の数字は結晶(氷: Ih および I 型ハイドレート:sI)の面指数

ことを示唆している.実際,ガスハイドレートの分解は 吸熱反応であり,ガスハイドレートの分解に伴い,その 試料温度は局所的に温度低下することが知られているこ とから,メタンハイドレートの分解表面に沿って,六角 板状の氷結晶が成長していくと考えられる.

一方, Melinkovらは, メタンハイドレート (Melinkov et al., 2009), プロパンハイドレート (Melinkov et al., 2007)の氷融点直下温度での分解に伴い, はじめは 過冷却水が生じ, その後は過冷却水が凍結して氷になる ことを光学顕微鏡観察により明らかにした. その後, Ohnoらはエタンハイドレートに関しても, 顕微鏡と Raman分光測定から同様の現象を明らかにした (Ohno et al., 2011).今までのところ,氷のベーサル面の優先 的な成長と過冷却水の形成との関連は明らかにはなって いない.しかし,これらの現象により,分解せずに残っ ているガスハイドレートを緻密な氷膜が覆い,融点直下 の温度においてもガスハイドレートは保存されると考え ている.

3. 非破壞内部構造観察

ガスハイドレートの分解メカニズムを理解するうえ で,分解過程におけるガスハイドレートとその分解によ り形成される氷の三次元分布を把握することは非常に有 効である.例えば、X線は物質透過性に優れ、物質内部 を非破壊でイメージングすることができるため、X線に よる非破壊観察は、医療・産業用に吸収コントラストX 線 CT が普及している.しかし,吸収コントラスト法は X線が物質を透過する際に生じるX線透過率の差を検出 するため,X線透過率の差からメタンハイドレートと氷 のように密度差が小さい物質同士を識別することは困難 である. Ohnoら (2011) は、ガスハイドレートと氷の X線透過率の差が比較的大きいアルゴンハイドレートと クリプトンハイドレートの245Kでの分解過程の経時 変化を,吸収コントラストX線CT観察により行った. アルゴンハイドレートの場合は、数時間~1日程度で、 徐々に分解した氷膜が表面を覆うように,徐々に内部に 分解が進行するのに対し、クリプトンハイドレートの場 合は,非常に短時間で全体的に分解が進行する様子が観 察された.

位相コントラストX線CT はX線が物質を透過する際 に生じる位相シフトを利用し,吸収コントラスト法より も水素,炭素,酸素等の軽元素で構成される低密度な物 質に対しても、高い密度分解能での測定が可能な手法で ある.実際,位相コントラストX線CTにより,193K で氷(密度:0.927 g/cm³)とメタンハイドレート(密 度:0.934 g/cm³)の識別が可能である(Takeva et al., 2011). 我々は,減圧法で取出された数 cm サイズのペ レット状ガスハイドレートサンプルを,-20°Cの大気圧 条件下に2-3週間放置し、位相コントラストX線CT を用いた内部観察を行った.その結果,共に薄い氷の層 に覆われ、メタンハイドレートの場合の氷の膜厚は100 µm 程度であり(Takeya et al., 2011), この結果は Takeya & Ripmeester (2010)の結果と良い一致を示 している.また最近、図4に示されるように、エタンや プロパンなども含む, 天然ガスの組成を模して作成され た天然ガスハイドレート (82.4% CH₄, 11.9% C₂ H_6 , 4.8% C_3H_8 , 0.5% iso- C_4H_{10} , 0.4% n- C_4 H_{10} , <0.01% iso-C₅ H_{12})の場合,氷膜の厚さは1 mm 程度で (Takeya et al., 2012), メタンハイドレー トの氷膜の厚さよりは厚いものの,内部のガスハイド レートは保存されていた. Uchida らはメタン+エタン 混合ガスハイドレートに関し,大きいサイズのものはメ タンハイドレートの場合(Takeya et al., 2005)と同様 に、分解が遅いことを確認しており(Uchida et al., 2011), これらの結果は、エタンやプロパン、天然ガス など微粉末状では非常に分解しやすいガスハイドレート においても,サイズ等を調整することにより,大気圧下 での保存が可能になることを示唆している.

クライオ SEM を用い,253 K の大気圧条件下に3週 間放置された天然ガスハイドレートの切断面を観察した ところ,天然ガスハイドレート中には気泡やクラックな どが無く,天然ガスハイドレートと分解生成した氷膜の 界面は密に結合している様子が観察された(Takeya et al., 2012).また,位相差X線CTの観察結果では,メ タンハイドレートと天然ガスハイドレートの何れの場合



図 4:保存された天然ガスハイドレート 大気圧下の 253 K で 3 週間保存した後に測定 (a)位相コントラスト X線 CT 三次元像(b)位相コントラスト X線 CT 二次元断面像 (c)クライオ SEM 像(Takeya et al., 2012 をもとに作成) も,ガスハイドレート表面の氷の膜厚は均一ではないこ とから,ガスハイドレート試料表面の結晶粒界やボイド 等,分解しやすいところから分解を開始するが,氷膜に よりガスハイドレート表面が隙間なく覆われた後は,分 解が抑制されると考えられる.

4. ガスハイドレートの分解モデル

以上に紹介した研究結果をまとめ、大気圧下における ガスハイドレートの分解機構を検討する(図5).

4.1 昇温法

低温領域(<~200 K)では、ガスハイドレートの分 解により、氷 Ic の微結晶がガスハイドレートの分解表 面に形成される.この氷は温度の上昇に伴い(~230 K<), 氷 Ic から Ih へと相転移し, 結晶粒成長や焼結 により比較的緻密な氷膜へと変化する.温度の上昇に伴 う氷膜の成長により、ガスハイドレートの分解速度の抑 制効果は発現するものの,基本的には,温度上昇により 分解速度は大きくなる.その結果,氷融点近傍に至るま でにはガスハイドレートの大部分は分解してしまう. こ の際,メタン、アルゴン、酸素,窒素などの水分子との 相互作用が比較的小さいと考えられるガスの場合、ガス ハイドレート中からゲスト分子が放出されても,氷の成 長を妨げにくいため、分解速度が昇温にともなう氷膜の 形態変化により遅くなると思われる.一方,エタンやプ ロパンなどの場合,ガスハイドレート中のケージ構造に 取り込まれるのに必要な平衡圧力が低いことから、メタ ンよりも水分子との相互作用が比較的大きいと考えられ る.これらガスの場合、ガスハイドレート中から分解に より水分子と同時に放出された際に,水分子が氷へと変 化するのを阻害し、ガスハイドレートの分解を抑制する 効果が少ないと考えられる.また,早い分解により過剰 な水分子が供給されることにより,樹枝状の氷が成長 し,ガスハイドレートの分解速度をより加速させると思 われる.

4.2 減圧法

氷融点近傍で,急激にガスハイドレートの分解が生じ ると,ガスハイドレートの分解により過冷却水が生じ, その後,凍結し緻密な氷膜がハイドレートを覆う.また は,過冷却水は形成されず直接に氷が成長する場合も, ガスハイドレートの分解表面を覆うように氷の六角板状 結晶が成長することにより,緻密な氷膜がハイドレート を覆うことになる.従来の固体内拡散モデルでは,ガス ハイドレート相と氷膜との間にガス相が介在し,ガス相 の内部圧力がガスハイドレートの解離圧になることで, ガスハイドレートが平衡状態になると考えられた.しか し,僅か100 μm 程度以下の非常に薄い氷膜が数 MPa もの圧力差に耐えられるとは考えられず,ガスハイド レート相と氷相が密に接合することにより,ガスハイド レートの分解開始(ガス相の形成)を妨げていると考え られる.

5. 今後の課題

本稿では、最近のガスハイドレートの自己保存性の研 究に関する進展について紹介するとともに、これまでに 未解明課題として残されてきた問題点について検討を 行った.

ガスハイドレートの自己保存性は、全てのガスハイド レートに普遍的なものではなく、また、ガスハイドレー トの分解にともなう氷の成長はゲスト分子のガス種に依 存することが明らかになった.各種のガスハイドレート の内、メタンハイドレートや炭酸ガスハイドレートなど は、自己保存性を発現しやすいガスハイドレートであ



図5:ガスハイドレートの分解モデル 灰色矢印は昇温法,白色矢印は減圧法の温度・圧力操作手順

り,減圧法による 100 μm 程度以下の薄い氷膜の形成に より "anomalous preservation"現象が生じることが 明らかになった.

一方で、ガスハイドレートの自己保存性とゲスト分子 のガス種との関連や、分解に関わる初期段階の理解な ど、分子レベルでのメカニズムは未解明のままである. これらの現象は、ガスハイドレート結晶の分解だけの問 題ではなく、ゲスト分子と水分子との相互作用や氷の結 晶成長機構とも密接に関係していると思われる.

今後は、ますます高速化する計算機を用い、従来の計 算機実験をより長い反応時間の計算へと進展させること により、ガスハイドレートの分解過程のみの短時間の計 算から、その後の氷の成長過程までを含めた長い反応時 間の計算へと進展させることも可能になってくると期待 している.さらに、実験と理論による総合的な現象の理 解が、ガスハイドレートを用いた新らたなガス貯蔵・輸 送技術の確立に繋がればと期待している.

謝辞

本稿で紹介した最近の研究のうち,X線回折を用いた 研究はJohn A. Ripmeester氏(National Research Council Canada)と共同で行った.メタン,天然ガス ハイドレートペレットを用いた研究は,三町博子氏,高 橋正浩氏,伊藤真人氏,岩崎徹氏,佐野健一氏,(三井 造船(㈱),後藤義人氏(産業技術総合研究所)と,また, 放射光を用いた研究は,米山明男氏,上田和浩氏(日立 製作所中央研究所),兵藤一行氏(高エネルギー加速器 研究機構),武田徹氏(北里大学)との共同研究による ものである.この場を借りて,心から御礼申し上げま す.

参考文献

- Falenty, A., Kuhs, W. F. (2009) "Self-Preservation" of CO₂ gas hydrates - Surface microstructure and ice perfection. *J. Phys. Chem. B*, **113**, 15975.
- Hallbrucker, A., Mayer, E, (1990) Unexpectedly Stable nitrogen, oxygen, carbon monoxide and argon clathrate hydrates from vapor-deposited amorphous solid water: An X-ray and two-step differential scanning calorimetry study. J. Chem. Soc. Faraday Trans., 86, 3785.
- Handa, Y. P. (1986) Calorimetric determinations of the compositions, enthalpies of dissociation, and heat capaciteies in the range 85 to 270 K for clathrate hydrates of xenon and krypton. J. Chem. Thermodynamics, 18, 891.
- Kobayashi, T. (1961) The growth of snow crystals at low supersaturations. *Phil. Mag.*, **6**, 1363.
- Kuhs, W. F., Genov, G., Staykova, D. K., Hansen, T. (2004) Ice perfection and onset of anomalous preservation of

gas hydrates. Phys. Chem. Chem. Phys., 6, 4917.

- Melnikov, V. P., Nesterov, A. N., Reshetnikov, A. M. (2007) Formation of supercooled water upon dissociation of propane hydrates at T < 270 K. *Doklady Phys. Chem.*, **417**, 304.
- Melnikov, V. P., Nesterov, A. N., Reshetnikov, A. M., Zavodovsky, A. G. (2009) Evidence of liquid water formation during methane hydrates dissociation below the ice point. *Chem. Eng. Sci.*, 64, 1160.

中谷宇吉郎(1938) 雪 岩波新書.

- Ohno, H., Oyabu, I., Iizuka, Y., Hondoh, T., Narita, H., Nagao, J. (2011) Dissociation behavior of C_2H_6 hydrate at temperatures below the ice point: Melting to liquid water followed by ice nucleation. *J. Phys. Chem. A*, **115**, 8889.
- Ohno, H., Narita, H., Nagao J. (2011) Different modes of gas hydrate dissociation to ice observed by microfocus X-ray computed tomography. *J. Phys. Chem. Lett.*, **2**, 201.
- Shimada, W., Takeya, S., Kamata Y., Uchida, T., Nagao, J., Ebinuma, T., Narita, H. (2005) Texture change of ice on anomalously preserved methane clathrate hydrate. *J. Phys. Chem. B*, **109**, 5802.
- Sloan, E. D., Koh, C. A. (2008) Clathrate Hydrates of Natural Gases, 3rd ed.; CRC, Taylor Francis: Boca Raton, FL.
- Stern, L. A., Circone, S., Kirby, S. H., Durham, W. B. (2001) Anomalous Preservation of Pure Methane Hydrate at 1 atm. J. Phys. Chem. B, 105, 1756.
- Stern, L. A., Circone, S., Kirby, S. H., Durham, W. B., (2003) Temperature, pressure, and compositional effects on anomalous or "self" preservation of gas hydrates. *Can. J. Phys.*, 81, 271.
- Takeya, S., Shimada, W., Kamata, Y., Ebinuma, T., Uchida, T., Nagao, J., Narita, H. (2001) In situ X-ray diffraction measurements of the self-preservation effect of CH₄ hydrate. *J. Phys. Chem. A*, **105**, 9756.
- Takeya, S., Ebinuma, T., Uchida, T., Nagao, J., Narita, H. (2002) Self-preservation effect and dissociation rates of CH₄ hydrate. *J. Cystal Growth*, 237–239, 379.
- Takeya, S., Uchida, T., Nagao, J., Ohmura, R., Shimada, W., Kamata Y., Ebinuma, T., Narita, H. (2005) Particle size effect of CH₄ hydrate for self-preservation. *Chem. Eng. Sci.*, **60**, 1383.
- 竹谷敏(2005) ガスハイドレートの自己保存効果に関する最 近の研究 低温科学,64,231.
- Takeya, S., Ripmeester, J. A. (2008) Dissociation behavior of clathrate hydrates to ice and dependence on guest molecules. Angew. Chem., Int. Ed., 47, 1276.
- Takeya, S.; Ripmeester, J. A. (2010) Anomalous preservation of CH₄ hydrate and its dependence on the morphology of hexagonal ice. *Chem. Phys. Chem.*, **11**, 70.
- Takeya, S., Yoneyama, A., Ueda, K., Hyodo, K., Takeda, T., Mimachi, H., Takahashi, M., Iwasaki, T., Sano, K., Yamawaki, H., Gotoh, Y. (2011) Nondestructive imaging of anomalously preserved methane clathrate hydrate by phase contrast X-ray imaging. *J. Phys. Chem. C*, **115**, 16193.
- Takeya, S., Yoneyama, A., Ueda, K., Mimachi, H., Taka-

hashi, M., Sano, K., Hyodo, K., Takeda, T., Gotoh Y. (2012) Anomalously preserved clathrate hydrate of natural gas in pellet form at 253 K. *J. Phys. Chem. C*, **116**, 13842.

Uchida, T., Kida, M., Nagao, J. (2011) Dissociation termination of methane-ethane hydrates in temperatureramping tests at atmospheric pressure below the melting point of ice. *ChemPhysChem*, **12**, 1652.

Yakushev, V. S., Istomin, V. A. (1992) Gas-hydrates selfpreservation effect. *Physics and Chemistry of Ice*; Hokkaido University Press: Sapporo, 136.

立体フラーレン型化合物の構造選択則

松本 正和¹⁾,田中 秀樹¹⁾

2012年9月9日受付, 2012年12月20日受理

クラスレートハイドレートの安定性を求める標準理論と, Frank-Kasper 型合金の結晶構造の経験 則から, クラスレート化合物の結晶構造選択則の基本原理を導いた. なぜクラスレートハイドレート の結晶構造の多様性が小さいのかを説明し, 新たな結晶構造を探索する指針を提案する.

Structure Selectivity of Space Fullerene Materials

Masakazu Matsumoto¹, Hideki Tanaka¹

A fundamental principle on the crystal structure selectivity for the clathrate materials is derived from the standard theory on the stability of the clathrate hydrates and the empirical rule for the Frank-Kasper phases of alloys. It explains why the number of naturally-occurring clathrate structures is limited out of a diversity of possible structures and proposes a guideline to explore the new crystal structures.

キーワード:結晶構造選択則,構造予測,クラスレート化合物,自由エネルギー計算,立体フラーレン crystal structure selectivity, structure prediction, clathrate materials, free energy calculations, space fullerenes

1. 序論

クラスレートハイドレートは,水の水素結合が作るカ ゴ状の構造(ケージ)に,ガス分子などのゲスト分子が 閉じこめられた固溶体である.ガス分子を内包している 場合にはガスハイドレートと呼ぶ.メタンハイドレート は最も代表的なガスハイドレートだが,水素からイソブ タンまで,様々なガス分子がガスハイドレートを形成す る.(Sloan and Koh, 2008)

2. ゲスト分子の大きさと結晶構造

クラスレート化合物は、その複雑なケージ構造が特徴 的である.(図1)ガスハイドレートでは、氷の中の水 分子と同じく、個々の水分子が、隣接する4つの水分子 と水素結合して、無限につながった三次元の網目を作っ ている.氷 Ih (われわれが日常目にする氷)では1つ

- 1)岡山大学大学院自然科学研究科 責任著者 松本 正和
 - E-mail: vitroid@gmail.com
- ¹ Graduate School of Natural Science and Technology, Okayama University, Okayama, Japan

の水分子に隣接する4つの水分子は、正四面体の頂点方向に配位しているが、ガスハイドレートの構造でも、この局所構造がほぼ保たれている.ガスハイドレートの結晶構造は、大きくわけてCS-I、CS-II、HS-IIIの3種



因1. ジノスレート構造CS1とCS11と、それを構成する Dケージ(12面体;青), Tケージ(14面体;緑), Hケー ジ(16面体;黄).

Figure 1: Clathrate structures CS-I and CS-II and their component cages, D (dodecahedral; blue), T (tetradecahedral; green), and H (hexadecahedral; yellow).



Figure 2: Empirical relation between the size of the guest molecule and the crystal structure.

類ⁱ が知られており、いずれも水分子が水素結合で作る、 多面体型のケージ構造をつめあわせた構造とみなせる.

CS-I構造は、5¹²ケージ(五角形12面で構成される 12面体)と5¹²⁶²(五角形12面と六角形2面で構成さ れる14面体)の組みあわせでできている.CS-II構造 は、5¹²ケージと5¹²⁶⁴で構成される.ケージの種類に よって内部空間の広さが異なるため、結晶構造はゲスト 分子の大きさに依存すると言われている.(図2)サイ ズが小さい5¹²ケージが最も多いのはCS-IIなので、ゲ スト分子が小さい場合にはCS-IIが選ばれる.もう少し 分子が大きくなると、2番目に大きなケージ5¹²⁶²を多 数持つCS-I構造が選ばれ、さらに分子が大きくなる と、16面体ケージ5¹²⁶⁴を持つCS-IIが再び選ばれる.

さらにゲスト分子が大きく,2分子種以上により安定 になる場合(Sloan and Koh, 2008)や,ゲストの分圧 が高い場合(Manakov et al., 2004)には,HS-IIIが選 ばれる.HS-III構造は,5¹²,4³5⁶6³と20面体の特大 ケージ5¹²6⁴の3種類のケージで構成され,五角形,六 角形のほか,四角形も含まれる.

ただし、臭素 Br_2 ハイドレートは例外で、常圧で、 これら3種類のいずれとも異なる、正方晶の TS-I 構造 になる¹¹. この構造は 5^{12} と $5^{12}6^2$ のほかに、15 面体の $5^{12}6^3$ ケージを持つ.

以下の議論では,水のネットワークの歪みが大きい, 4 員環を含むクラスレート構造は除外し,5,6 員環の みからなるネットワーク構造を扱うことにする.このよ うなネットワーク構造は,同じく5,6 員環のみで構成 されたフラーレンやカーボンナノチューブにちなんで, 立体フラーレン (Space Fullerene) とも呼ばれている. (Dutour Sikirić et al., 2010)

3. 結晶構造の構成原理

多面体の大きさや組みあわせ方は結晶構造によって異 なるが、いずれの構造にも共通な特徴を知ると、その構 造の構成原理が理解しやすい.ゲスト分子の視点に立て ば、ゲスト分子は20~28分子(HS-IIIの特大ケージの 場合は36分子)の水分子の水素結合が形成する、多面 体状のケージに捉えられている.(図1)多面体の面は、 水素結合の環で構成される.CS-IとCS-IIは五員環と 六員環のみでできており、HS-IIIは歪みの大きな四員 環も含む.

一方,水分子の視点に立つと,1つの水分子は必ず4 つのケージに属し,4つのゲスト分子(あるいはゲスト が入っていない,空のケージ)に囲まれているように見 える.(図3)これは,水が1分子につき4本の水素結 合を作るのを好み,その結合を正四面体の頂点の方向に 向けるのを好むことに由来する.水は疎水的なゲスト4 分子のはざまに入ることで,水素結合を氷と同じく4本 維持することができ,氷なみに安定となる.(Matsumoto,2010)

つまり、クラスレートハイドレートの構造を、多面体 のケージで空間充填した構造ととらえると、至るところ で4つのケージが1つの水分子を共有して組みあわさっ ていることがわかる.(図4)ケージを構造の基本単位 とみなせば、この構造はケージの四面体充填(Tetrahedrally close-packed, TCP)構造である.

図4からわかるように、隣接するケージの中心(ゲス ト分子位置)同士を線で結んでいくと、そのネットワー クは四面体充塡構造になる.逆に、隣接する四面体の中 心同士を線で結んでいくと、そのネットワークは水の水



図3:1つの水分子を、4つのゲスト分子が囲んだ構造.水 分子は、ゲスト分子の隙間から、4つの隣接水分子と水素結 合を作ることができる.

Figure 3: Local packing structure of a water molecule surrounded by four guest molecules. Water molecule can make four hydrogen bonds with four neighboring water molecules through the gap between guests.



図4:左:水の配置(赤丸が酸素,水色が水素,黄色は水素 結合)に注目すれば,多面体ケージをつめあわせた構造に見 える.多面体の中央にはゲスト分子が位置する.右:全く同 じ構造を,ゲスト分子(白丸)の配置に注目すれば,四面体 充塡構造であることがわかる.四面体の中心には必ず水分子 が1つある.

Figure 4: Left: Polyhedral packing structure built of water molecules. A guest molecule (white sphere) occupies each polyhedral cage. Right: Polytetrahedral packing structure built of guest molecules. A water molecule (red and skyblue spheres are oxygen and hydrogen atom of a water molecule, respectively) occupies each tetrahedron.

素結合ネットワークに重なり,ケージ構造をうかびあが らせる.このように,クラスレートの構造では,水とゲ スト分子の配置は双対の関係にある.

4. 結晶構造の(非)多様性

ところで,球の最密充填構造として知られる,面心立 方格子では,球の局所配置は1:2の割合で正八面体ま たは正四面体となっている.局所配置としてみれば,正 八面体よりも正四面体のほうがわずかに密度(充填率) が高いが,正四面体だけで空間を埋めつくそうとする と,わずかに隙間ができてしまい,正四面体だけで無限 に周期的な結晶構造を作ることができない.(図5)こ のため,正四面体の局所充填構造だけで空間充填された 結晶は存在しない.

しかし,四面体にわずかの変形を許すことで,四面体 を5つ合わせた,局所的な充塡構造を実現できる.この 構造を双五角錐と呼ぶ.これと双六角錐などを組みあわ せることで,幾何学的フラストレーションを蓄えること なく,空間を充塡できるようになる.(図6)このよう



図5:左:正四面体を5つ組みあわせるとギャップが生じる.右:20個組みあわせるとギャップはさらに広がる. Figure 5: Left: Combination of five regular tetrahedra leaves a small gap. Right: The gap becomes larger when twenty regular tetrahedra are combined.

な結晶構造を四面体充填構造と呼び,特に双五角錐と双 六角錐のみの局所充填構造(Kasper 多面体)で構成さ れる四面体充填構造を Frank-Kasper (FK)構造と呼ぶ. (Frank and Kasper, 1959)

FK 構造は、合金結晶の構造として広く知られてお り,現在までに,27種類のFK構造の合金結晶が実際 に合成され、その多様性は理論上は無限にあると考えら れている. (Dutour Sikirić et al., 2010) 前節では, ク ラスレートのケージの配置(ゲスト分子の位置)は四面 体充塡になっていると述べたが、実際、CS-I、CS-II 結 晶構造のケージの配置は、それぞれFK構造のA15、 C 15 構造の原子配置と相同である¹¹¹.また,任意のFK 構造の合金結晶の金属原子の位置にゲスト分子を置き, 四つの隣接するゲスト分子が作る四面体の中心に、それ ぞれ水分子を置くと、仮想的なクラスレートハイドレー ト構造を構成できる. つまり, 多種多様な FK 構造に双 対な、多種多様なクラスレートハイドレート構造を想定 できる.これらの構造は、五員環と六員環からなる4種 類の基本的なケージのみから構成される立体フラーレン 構造なので,結合の歪みが小さく,ゲスト分子がこれら の構造のケージにフィットすれば、安定相として生じて も不思議はない.

実際, Frank と Kasper は合金の分野で著名な論文 (1959) で, クラスレートハイドレートの様々な新たな 結晶構造(当時はまだ CS-I と CS-II しか知られていな かった)が将来発見されると予言している.しかし,そ の後 50 年経ち, FK 構造の合金は多数発見されたが, その双対であるクラスレートハイドレートの構造はほと んど増えていない.

なぜクラスレートハイドレート結晶の種類が少ないの



図6:四面体に多少の歪みを許し,2種類の基本構造,双六 角錐(a)と双五角錐(b)を作る.これらのみの組みあわせででき た構造が Frank-Kasper 構造である.(c)~(f)には,4種類の Kasper 多面体を示す.いずれも双六角錐と双五角錐の組み 合わせでできており,面の数はそれぞれ20,24,26,28面, 中心原子の配位数は12,14,15,16である.

Figure 6: (a) (b) hexagonal and pentagonal bipyramids by allowing small distortions to the regular tetrahedra. (c) (d) (e) (f) Four Kasper polyhedra built of hexagonal and pentagonal bipyramids. Numbers of faces are 20, 24, 26, and 28, and coordination numbers are 12, 14, 15, and 16, respectively.

かについては、これまで、CS-IとCS-IIがもともと安 定な構造である(これは説明になっていないが),平面 六員環が不安定だから、15面体構造が不安定だから、 など、様々な説明が試みられてきた. Kosyakovら (1999) は、様々なクラスレートハイドレート構造につ いてポテンシャルエネルギー計算を行い、各結晶構造の どの部分に水素結合角の歪みが生じるかを検討して,新 構造の可能性を探った.ただし,ゲストを内包すること による安定性の変化については考慮されていない. 大き いケージを構成している平面六角形は,氷を構成する椅 子型/舟型六角形に比べ,結合角が広いため,不安定で あるという説明もされているが、CS-Iが最も多数の六 員環を含むにも関わらず,非常に安定であることを考え ると、あまり説得力がない.実際上、CS-IとCS-IIし か出現しないから、ほかの構造を考える必要はないのだ という意見は、実験家からしばしば耳にする.しかし、 準安定相は結晶化や解離の微視的過程に大いに影響を与 える可能性があるし,新しい結晶構造は,新規な物性を もたらす可能性もある.いずれにせよ, CS-IとCS-II だけをいくら調べても、なぜその2つの構造しかできな いのか、という疑問には決して答えられないのは確かで ある.FK型合金構造の研究により、どのようなクラス レート結晶構造の候補があるかがあらかじめわかってい る (Dutour Sikirić et al., 2010) ので, 理論的には, 自 由エネルギー計算を行えばどの相が最も安定になるかは わかる.その起源を調べれば、結晶構造の安定性による のか、ゲスト分子が包接されることで安定化しているの かもわかる.ただし、すべての結晶構造の候補とあらゆ るゲスト分子のサイズや相互作用の組みあわせについ て,様々な混合比,温度,圧力で,自由エネルギー計算 を行うのは容易ではなく、このことが、構造選択性の理 解を妨げてきた.ともあれ,まずは理論計算の方法を見 ていこう.

5. 理論による化学ポテンシャルの推定

ガスハイドレートの安定性を見積る標準的な理論とし て、van der Waals and Platteeuw (vdWP)の理論 (1959)がある.これは、次の3つの仮定をおき、ガス ハイドレートの大分配関数をシンプルな形で表現する.

- 仮定1:異なるケージに含まれるゲスト分子は独立であ る.
- 仮定2:ゲスト分子はホスト格子の振動に影響を与えな い.
- 仮定3:各ケージはたかだか1分子のゲストを内包す る.

このうち,仮定3は外しても以下の議論に影響を与え

ないが、ここでは簡単のため、各ケージには最大でも1 分子しか入らず、またゲスト分子は1成分で単原子分子 として式を展開する.1つのケージを複数の分子が占有 する(多重占有)場合、多原子分子の場合、混合ガスの 場合については文献に詳しいので、そちらを参照してほ しい.(Tanaka and Kiyohara, 1993; Tanaka, 1994; Tanaka et al., 2004; Koyama et al., 2005)

温度 *T* でのガスハイドレートの大分配関数は,これ により,次のように書ける.

$$\Xi = \exp(-\beta A_w^0) \prod_k C_k(T)^{N_k}$$
$$= Z_0 \Xi' \tag{1}$$

ただし, $\beta = 1/k_B T$, k はケージの種類を表し, N_k は ケージの個数, A_w^0 はゲストが入っていない結晶格子の 自由エネルギー, $C_k(T)$ はケージの分配関数である.水 の化学ポテンシャル μ_c は,ただちに次のように書け る.

$$\mu_{c} = -k_{B}T \frac{\partial (\ln Z_{0} + \ln \Xi')}{\partial N_{w}}$$
$$= \mu_{c}^{0} + \Delta \mu_{c}$$
(2)

ただし N_w は水の分子数,前者はホスト格子の寄与, 後者はゲスト分子がケージを占有することの寄与であ る.ゲストがホストに影響を与えないという仮定によ り,ホストとゲストの寄与を明確に分離でき,それぞれ 別個に計算できる.

ホスト格子の寄与とはつまり、ゲストを含まない空の 結晶格子の自由エネルギーにほかならない.これは様々 な計算方法があるが、例えば以下のように、調和振動子 近似により、絶対零度でのポテンシャルエネルギー *u* と振動の自由エネルギー*f*^(h)の和で容易に計算できる.

$$\mu_c^0 = u + f^{(h)} = u + k_B T \sum_{i}^{6N_w - 3} \ln(2\sinh(\beta h v_i/2)) / N_w$$
(3)

ただし、 v_i は i 番目の規準振動の振動数、h はプラン ク定数である.

なお、プロトンディスオーダによる残余エントロピー の寄与 $N_w k_B T \ln \frac{3}{2}$ は、プロトンディスオーダ相同士の 自由エネルギーを比較する場合には相殺するので省略す る.

ゲスト分子がケージを占有することの寄与は,次のように計算される.

$$\frac{\Delta\mu_{\rm c}}{k_BT} = -\frac{\partial\ln\Xi'}{\partial N_w}$$
$$= -\sum_k \alpha_k \ln C_k(T) \tag{4}$$

ただし、 $\alpha_k = N_k / N_w$ は水1分子あたりのk 面体ケージの個数である. $C_k(T)$ はk 面体ケージの分配関数で、ケージにたかだか1分子しか入らない場合には次のように書ける.

 μ_{g} はゲストの化学ポテンシャルで、ゲストが不溶性 の単原子気体の場合には、理想気体を仮定することで圧 力と温度から計算される.

$$\mu_j = -k_B T \ln\left(\left(\frac{2\pi m_j k_B T}{h^2}\right)^{\frac{3}{2}} \frac{k_B T}{p_j}\right) \tag{6}$$

ゲスト分子が液体の場合や水溶性の場合には、別の手 段で化学ポテンシャルを計算する必要がある. f_k はk面体ケージに捉えられたゲスト分子の自由エネルギーで あり、単原子分子の場合は次の積分で計算される.

$$f_{k} = -k_{B}T \ln \left[(mk_{B}T/2\pi\hbar^{2})^{3/2} \int_{V_{k}} \exp(-\beta w(\mathbf{r})) d\mathbf{r} \right]$$
(7)

ただし, m は分子の質量, w(r)はゲスト分子と周囲 の水分子の間の相互作用エネルギーで,積分はケージ内 部で実行される.多重占有がある場合や混合ガスの場 合,ゲスト分子が多原子分子の場合は C_k(T)の詳細が 違ってくるが,式(4)は変化しないことに留意してほし い.

Matsumoto と Tanaka (2011)の計算では, vdWP 理 論の仮定に加えて,以下の仮定を導入した.

仮定4: f_k の値が、同じ温度圧力では結晶構造に依らない。

例えば、12面体ケージであれば、CS-Iの12面体 ケージでもCS-IIの12面体ケージでも、 f_k の値は等し いとみなすのである、ケージの種類ごとの f_k の値は文 献 (Matsumoto and Tanaka, 2011) を参照されたい.

実際の計算では、水分子は TIP4P 水分子モデルを、 ゲスト分子は Lennard-Jones ポテンシャルを用いた. 相互作用の大きさと分子のサイズによって、結晶構造が どのように選択されるかを明らかにするため、ゲスト分 子が多原子分子の場合も、近似的に単サイトの Lennard-Jones モデルで表現する.

6. ケージの比率に関する経験則

FK 構造の結晶の配位数には面白い規則性が知られて いる.例えば,A 15 相では,原子の配位数はすべて12 配位(D)もしくは14 配位(T)となっており,その 比率は1:3である.これを $D^{1}T^{3}$ と表記することにし よう.Z相では12,14 配位以外に15 配位(P)が混在 していて,その比率は3:2:2である.上の表記になら えば, $D^{3}T^{2}P^{2}$ となる.一方, σ 相では,12,14,15 配位の比率は5:8:2となっていて,これは $D^{5}T^{8}$ $P^{2}=(D^{1}T^{3})^{2}(D^{3}T^{2}P^{2})$ と書ける.つまり, σ 相のD, T,P原子の個数は,A 15 相の2倍とZ相の「和」に なっている. このような関係は,様々な FK 構造の間で 成り立つのだが,これを Yarmolyuk and Kripyakevich (1974) が次のように定式化した. 12, 14, 15, 16 配位原子をそれぞれD,T,P,Hと表記すると, 任意の FK 型合金の各配位原子の個数は,経験的に次の ように表現できる^{1v}.

$(D^{1}T^{3})^{p}(D^{2}H^{1})^{q}(D^{3}T^{2}P^{2})^{r}$ (8)

ただし, *p*, *q*, *r* は結晶構造に固有の定数である. *D*²*H*¹とはC 15 構造のことなので,配位数に関する限 り,任意のFK型合金は,3種類の基本構造A 15,C 15,Zの混合物と言える.

クラスレートハイドレートの構造はFK 構造の双対な ので,Yarmolyukらの経験則はそのままクラスレート ハイドレートにあてはめられる.12,14,15,16 面体 ケージをそれぞれD,T,P,Hと表記すると,任意の FK型クラスレートハイドレートの,ケージの個数の組 みあわせも式(8)となる.D¹T³,D²H¹,D³T²P²は, クラスレートハイドレートの構造CS-I,CS-II,HS-I で,これらはそれぞれFK構造A15,C15,Zの双対 構造である.なお,以後の議論では,FK構造の双対で あるクラスレート構造については,Dyadin and Udachin (1987) で命名されているものはその名称を使い, それ以外は合金結晶構造の呼称を用いる.

HS-I 構造は安定相のクラスレートハイドレート結晶 構造としてはまだ発見されていないが, Yang et al. (2009) は, Xe ハイドレートの準安定構造が HS-I にな ることを報告している. HS-I の構造は, HS-III の特大 ケージを 2 つの 14 面体ケージに分割した構造で, HS-III に酷似しており, 高圧で生成した HS-III 構造の Xe ハイドレートを低温で減圧緩和することで HS-I に変換 できる.

ところで、先に述べた通り、クラスレートハイドレートでは、1つの水分子は必ず4つのケージに共有されている.12、14、15、16面体ケージはそれぞれ20、24、26、28分子の水で構成されているので、任意の結晶構造Aに含まれるk面体ケージの個数 $N_k^{(A)}$ と、水分子の個数 $N_w^{(A)}$ には次の関係が成り立つ(Matsumoto and Tanaka, 2011).

 $20N_{12}^{(A)} + 24N_{14}^{(A)} + 26N_{15}^{(A)} + 28N_{16}^{(A)} = 4N_w^{(A)}$ (9)

式(8)は同じ記号を使って次のように書ける.

 $N_{k}^{(A)} = p N_{k}^{(CS-I)} + q N_{k}^{(CS-II)} + r N_{k}^{(HS-I)}$ (10)

さらに式(9)の線形性から、次の式も得られる.

 $N_{w}^{(A)} = p N_{w}^{(CS-I)} + q N_{w}^{(CS-II)} + r N_{w}^{(HS-I)}$ (11)

これらを組み合わせると, FK 型クラスレートハイド レート構造Aのケージ個数について, 次の式が導かれ る.

$$\frac{N_{k}^{(A)}}{N_{w}^{(A)}} = x^{(A)} \frac{N_{k}^{(CS-I)}}{N_{w}^{(CS-I)}} + y^{(A)} \frac{N_{k}^{(CS-II)}}{N_{w}^{(CS-II)}} + z^{(A)} \frac{N_{k}^{(HS-I)}}{N_{w}^{(HS-I)}} \quad (12)$$
式 (4) で導入した記号を使えば,次のようになる.
$$\alpha_{k}^{(A)} = x^{(A)} \alpha_{k}^{(CS-I)} + y^{(A)} \alpha_{k}^{(CS-II)} + z^{(A)} \alpha_{k}^{(HS-I)} \quad (13)$$

ただし, *x*^(A) は次のように定義される,構造に固有の 定数である.

$$x^{(A)} = \frac{p N_w^{(CS-I)}}{p N_w^{(CS-I)} + q N_w^{(CS-II)} + r N_w^{(HS-I)}}$$
(14)

 $y^{(A)}$, $z^{(A)}$ も同様に定義される. $x^{(A)}$, $y^{(A)}$, $z^{(A)}$ は, 構造Aが, 3基本構造CS-I, CS-II, HS-Iをどのよう な比率で混合した構造であるかを示す,ケージ構成比で ある.これらの間には,明らかに次の関係が成りたつ.

$$x^{(A)} + y^{(A)} + z^{(A)} = 1$$
(15)

ただし、 $0 \le \{x^{(A)}, y^{(A)}, z^{(A)}\} \le 1$ である.つまり、 ケージ構成比は図7のような三角図で表現できる.

表1には,様々なFK構造のケージ構成比を示す.図 7において,一つの点に複数の構造が重なっていること に注意して欲しい.例えば,C15(CS-II)とC 14(HS-II),C36^vは,ケージ構成比は等しいが, ケージの幾何学的配列が異なる.TS-IとH,Pと*S*も 同様である.

化学ポテンシャルの線形関係と安定相の決定 原理

vdWP 理論から導かれる式(4)と, Yarmolyuk ら の経験則から導かれる式(13)は, 両者とも同じ変数





Figure 7 : Ternary diagram of cage compositions of various clathrate structures.

αの線形結合になっているので、これらを組み合わせることで、直ちに次の式が得られる.

$$\Delta \mu_{\rm c}^{(\rm A)} = x^{(\rm A)} \Delta \mu_{\rm c}^{(\rm CS-I)} + y^{(\rm A)} \Delta \mu_{\rm c}^{(\rm CS-II)} + z^{(\rm A)} \Delta \mu_{\rm c}^{(\rm HS-I)}$$
(16)

つまり, 任意の FK 型クラスレートハイドレートの $\Delta \mu_c$ は, 基本3構造のケージ占有による化学ポテンシャ ル寄与 $\Delta \mu_c$ を, ケージ構成比で内挿すれば得られる. この様子を図8に示す.

表1:ケージ構成比 (Matsumoto and Tanaka, 2012) Table1:Cage compositions (Matsumoto and Tanaka, 2012).

Frank- Kasper	Clathrate	x	у	2
A 15	CS-I	1	0	0
б	TS-I	23/43	0	20/43
Η	—	23/43	0	20/43
J	—	23/63	0	40/63
Ζ	HS-I	0	0	1
Р	_	23/80	17/80	1/2
δ	—	23/80	17/80	1/2
μ	_	0	17/37	20/37
pσ	OS	0	17/37	20/37
zra-d	_	0	17/37	20/37
Μ	—	0	17/37	20/37
Т	—	0	17/23	20/37
C 15	CS-II	0	1	0
C 14	HS-II	0	1	0
C 36	—	0	1	0



図8:6種類のFK型ハイドレート構造のケージ構成比と, Δμcの関係の模式図.

Figure 8 : Illustration how the cage composition of 6 clathrate structures and $\Delta \mu_c$ of them are related. 式(16)より, すべての FK 型クラスレートハイド レートの $\Delta\mu c$ は同一平面内で,3基本構造の $\Delta\mu c$ が作 る三角形の内側にある.このことは,ゲスト分子の大き さや圧力をいかに調節しても, $\Delta\mu c$ が連動して変化して しまうため,特定の結晶構造だけを安定にすることがで きないという強い制約を意味する.式(16)は,式(4) のケージ内の分配関数 C_k の詳細にも依存しないので, ケージが多重占有されても,あるいは2成分以上の混合 気体を用いても、この制約を破ることができない.

式(2)に示した通り、ガスハイドレートの化学ポテ ンシャルは、ゲストを含まない空の結晶格子による化学 ポテンシャル寄与 μ_c^{0} と、ゲストからの寄与 $\Delta\mu_c$ の和で 表せる.主要なFK型クラスレートハイドレートの μ_c^{0} の値は文献(Matsumoto and Tanaka, 2012)にまとめ られている. μ_c^{0} を図8に書き加えると図9のようにな る.三角形から垂れ下がる振り子は、各結晶構造の μ_c^{0} を示し、その先端の高さが、各結晶構造の安定性を示し ている.ゲスト分子のサイズや混合比、相互作用が変化 すると、 $\Delta\mu_c$ の三角形の傾きが変化し、最安定相が入れ かわる.なお、CS-IIとC14、C36のように、ケージ 構成比が同一の結晶の場合は、 $\Delta\mu_c$ が等しいので、空の



図9:上の三角形が $\Delta\mu_c \varepsilon$, そこから垂れ下がる振り子の長 さが $\mu_c^0 \varepsilon$ 表し, 先端の白丸の高さがその構造の化学ポテン シャル $\mu_c \varepsilon$ 表す. HS-I 構造は μ_c^0 が高い (振り子が短い) ため, 三角形がかなり傾いても, 最安定相にはなれない. Figure 9:Illustration how the stability can be estimated. Black points on the upper triangle indicate the $\Delta\mu_c$ of various crystal structures. Length of the swinging rod indicates the μ_c^0 of the structure and the height of the dropped empty circles indicate the stability of the structure, μ_c .

結晶格子による化学ポテンシャル寄与µ゚の大小だけで 安定性が決まる.

図10には、ゲスト分子のLennard-Jonesパラメータ に対して、相図を描いた。ゲストーホスト相互作用が弱 い場合には、CS-IまたはCS-IIしか安定にならないと いう経験則を正確に再現している。また、ゲストーホス ト相互作用がかなり大きい場合に、ごく限られたゲスト 分子サイズでのみTS-I構造が安定になることがわか る。臭素の分子サイズと相互作用はまさにこの狭い領域 におさまる。HS-Iを安定にするためには、さらに強い 相互作用が必要となるが、これについては後で述べる。

8. 一般化相図と準安定相

図9からは、さらに幾何学的な制約を読みとれる.振 り子をつりさげる三角形 ($\Delta\mu$ c平面)の傾きを変えて も、個々の振り子を別々に動かすことはできないので、 振り子の長さ (μ c⁰)が決まるとただちに、どの点が最安 定になりうるかが決まってしまう.最安定になりうる構 造は次の方法で直ちに決定できる.図11のように、す べての振り子の先端の点を使って下方凸包を描いた時 に、その凸包に含まれる点以外は、いかに三角形の傾き を変えても、一番下に来ることはできない、つまり最安 定相にはなれないのである.今回調査した全 FK 型クラ スレートハイドレート構造の中で、CS-I、CS-II、TS-I、HS-I 構造のみが最安定相になりうることがわかる. その他の結晶構造、例えば図11に示した中では、 μ 相 と P相は決して安定相になれない、永久準安定相であ



図 10: 理論から得られた, ゲスト分子の Lennard-Jones パ ラメータに関する相図. 温度 273 K, 気体の分圧は 10 MPa. 赤点と黒点はそれぞれ, CS-I, CS-II 型結晶となるこ とが実験により報告されている分子の Lennard-Jones パラ メータを示す (Hirschfelder et al., 1954).

Figure 10 : Theoretically estimated phase diagram against the Lennard-Jones parameters of the guest molecule. Temperature is 273K and partial pressure of the guest gas is 10 MPa. Red and black points indicate the Lennard-Jones parameters of the molecules whose clathrate hydrate structures are known to be CS-I and CS-II in reality, respectively (Hirschfelder et al., 1954).



図 11: μ_c の点の集合が作る、下方凸包を描いた. $\Delta \mu_c$ 平面 をどのように傾けても、 μ_c (白丸) が下方凸包にのっていな い構造を、凸包よりも下 (最安定) にすることはできない. Figure 11: Lower convex hull made from chemical potentials μ_c of various phases. It indicates the fact that the points off the convex hull can never become the lowest no matter how the $\Delta \mu_c$ triangle is tilted.

る. このような準安定相の μ_c(振り子の先端の高さ) は,三角形の傾きが変わると変動し,最安定相からの化 学ポテンシャル差も変化するが,幾何学的な要請によ り,凸包からの高さは常に一定に保たれる.そして,こ の高さは,準安定相の化学ポテンシャルが最安定相の化 学ポテンシャルに近づくように三角形の傾きを選んだ時 の,両者の化学ポテンシャル差を示している.

つまり,どの結晶構造が最安定になれるかは、ゲスト 分子には依らずに、各結晶構造のμ⁰の値と、各結晶構 造のケージ構成比だけで決まってしまうということにな る.FK型合金には多様な結晶構造が見付かっているの に、クラスレートハイドレートにはほとんど見付かって いないのは、このようなクラスレート化合物特有の厳し い制約のためであることがわかった.

ゲスト分子が、三角形($\Delta\mu$ c 平面)の傾きを変えるこ としかできず、どの相が安定になるかはこの傾きだけで 決まるというのなら、三角形の傾きに対して相図を作る のが自然である。図 12 には、三角形の傾き、すなわち、 $\Delta\mu$ c^(HS-I) に対して $\Delta\mu$ c^(CS-I) と $\Delta\mu$ c^(CS-II) がどれだけ大きい かを縦横の軸とし、各相の化学ポテンシャル平面を重ね た図を示す。各平面の傾きはケージ構成比のみで決ま り、高さはクラスレートハイドレートの化学ポテンシャ ル μ cを表している。また、原点での平面の高さは、 μ c を表す。最も下に来る相が、最安定相なので、化学ポテ



図 12:三角形の勾配に対する,各相の化学ポテンシャル µc. 相境界の色は,図 11 と対応している.

Figure 12 : Chemical potential planes, μ_c , of various phases plotted against the slope of the $\Delta \mu_c$ triangle. Colors of the phase boundaries correspond to those in Figure 11.

ンシャル平面の上下関係から,一般化相図(図13)を 描くことができる.一般化相図上の共存線の勾配は,共 存する2相のケージ構成比のみで決まる.また,一般化 相図での,各相の領域の境界線は,図11の下方凸包の 双対図形となる.

図12には安定相となりうる4相しか描いていないが、 すべての FK 型クラスレートハイドレート構造につい て,同じように化学ポテンシャル平面を重ねれば,各準 安定相の化学ポテンシャルが,最安定相の化学ポテン シャルに最も近付くような,三角形の傾きを知ることが できる.幾何学的に明らかなように、A相とB相の混合 相(三角図上でA相とB相を結ぶ線上にある相)である C相の化学ポテンシャル平面の傾きは、A相の化学ポテ ンシャル平面とB相のそれとの中間なので、A相とB相 の化学ポテンシャル平面が交差する時に、もっともC相 の化学ポテンシャルがA, B両相の化学ポテンシャルに 近付く. 例えば, μ相は HS-I と CS-II 相の混合相であ り,三角図11上では青い辺の上にあるので,図13の一 般化相図では、青い共存線の付近で最安定相との化学ポ テンシャル差が最小になる.また,P相は3基本構造の 混合相であり,三角図上では青,桃,緑の線に囲まれた 領域にあるので、図13の一般化相図上では、青、桃、 緑の共存線が交わる三重点付近で最安定相との化学ポテ ンシャル差が最小になる.このように,一般化相図と三 角図から、準安定相の安定性の序列や、安定相と準安定 相の化学ポテンシャル差など,非常に多くの情報を汲み とることができる.

前節で述べた通り, TS-I 構造が安定になるためには, かなり大きなゲストホスト間相互作用が必要になるが, あまり相互作用が強すぎると, クラスレート構造自体を 不安定化してしまう(Koga et al., 1994)ため, TS-Iよ りもさらに強い相互作用を要する HS-I 構造を形成する



図 13: 一般化相図. 等高線は, 10 MPa, 273K において, ゲスト分子の大きさとゲストーホスト相互作用の大きさで, $\Delta\mu_c$ の三角形がどれだけ傾き,その結果どの結晶構造が選択 されるかを示している.細い実線は,ゲストーホスト相互作 用の強さ ϵ_{gw} を,細い点線はゲスト分子の直径 σ_g を表す. Figure 13: The generalized phase diagram. Thin solid and dashed contours are guest-host interaction strength, ϵ_{gw} , and the size of the guest molecule, σ_g , respectively, at 10MPa and 273K, and they indicate how the $\Delta\mu_c$ plane in Figure 11 is slanted and which phase becomes the most stable as a result.

ゲスト分子はまだ発見されておらず,当然 HS-I との共 存線に到達することも不可能である.この点で,図11 の青・桃辺上や,青・桃,緑辺に囲まれる領域にある FK 型準安定相を見付けることも困難であろう.一方, Hellmer and Pearson (1987)によれば,幾何学的な制約 により,図11の赤辺上には FK 相は存在しない.これ らを総合すると,もし4つの安定相以外の新しい FK 型 構造が見付かるとすれば,CS-I/TS-I 共存線か CS-II/ TS-I 共存線の近くの可能性が高く,それは準安定相と なる.

9. 炭素族クラスレートの構造選択則

クラスレートハイドレートに似た構造を作る物質とし て、炭素族(C, Si, Ge, Sn)クラスレート化合物が 知られている.これらの元素は水分子の水素結合ネット ワークと同様、4配位の結合構造を好み、ゲスト原子を とりこんでガスハイドレートと同形の結晶構造になる. 水に比べて結合が短いため、ケージの体積が小さく、大 きな分子を閉じこめることはできないが、ケージの中に 包接されるゲスト原子の種類によって、超伝導性、熱電 性、光電性など様々な物性を付与できるため、新素材の 候補として注目を集めている(Adam et al., 1994;山 中, 2007).

これまで、Si, Ge, および Sn のクラスレート化合物

(2元素以上の混合結晶も含む)で, CS-I, CS-II, および TS-I 型の結晶が得られている.^{v1}つまり, ガスハイドレートで見付かった, 3つの結晶構造が炭素族クラスレートでも見付かっており, かつそれ以外の構造は見付かっていないのである.

前節で述べたように、ガスハイドレートの場合、ゲス ト分子に関する情報がなくても、空ケージの化学ポテン シャルμ⁰さえ得られれば、どの結晶構造が最も安定に なりうるかがわかる.この議論が炭素族クラスレートに もあてはまるとすれば、ゲストが入っていない結晶格子 の化学ポテンシャル^{ν11}さえ計算できれば、同じように 一般化相図を描くことができ、可能な結晶構造や、準安 定相との自由エネルギー差を推定できる.

Stillinger and Weber (1985) のシリコン原子モデルを 用いて,今回計算したすべての FK 型クラスレート構造 について,この計算を行った結果,水と同じく,CS-I, CS-II,TS-I,HS-Iのみが安定相となりえて,水のもの に酷似した一般化相図が描けることがわかった(Matsumoto, unpublished data).炭素族クラスレート化合 物の結晶構造の種類が少ない理由も,水の場合と同じで あることが推測できる.一般化相図は,炭素族クラス レートの新奇な結晶構造をさがす手がかりとなるだろ う.

10. 結局,新しい構造を見付けるにはどうすれ ばいいか

五員環と六員環の組みあわせで構成される,FK型ク ラスレートハイドレート (Space Fullerene) では, Yarmolyuk らの規則のため,化学ポテンシャルの値が 強く束縛され,特定の結晶構造を安定にするすべがない ことが明らかになった.CS-IとCS-II 構造ばかり(ま れにTS-I)が出現することも説明できた.

その上で,なお CS-I, CS-II 以外の構造を創る方法を 考えてみる.

1つは、vdWP 理論が設定した、3つの仮定を破綻 させるという方法が考えられる.ゲストーゲスト間の相 関を大きくし、ケージを特定の配列にパッキングした時 だけ安定になるようなことがあれば、その構造を安定に できるだろう.ただ、ゲスト分子の相互作用が大きくな れば、ホストとの相互作用も一般には増大し、ケージを 不安定にする可能性もある.

もう一つは,五員環と六員環に限定せず,4員環や7 員環も許容し,より多様な結晶構造を探索することであ る.Yarmolyukらの規則にしばられない(ただし,別 の未発見な規則性はあると思うが)メリットの一方,水 素結合ネットワークの歪みが大きくなるために,安定性 が下がる.

より現実的と思われる策は、準安定相をさがすことで

ある.本理論により,どの準安定相が,相図のどのあた りで最も安定になる(最安定相との化学ポテンシャル差 が最小になる)かがわかる.安定相同士の相境界付近で は,多数の準安定相が相対的に安定化されるので,結晶 が形成される環境条件によっては,準安定相が出現する 可能性はある.また,ヘテロエピタキシー成長など,積 極的に準安定相を成長させる技術も存在する.Xeの HS-I準安定結晶を得るのに用いられた方法を参考にす るなら,対称性が似た準安定相の間でOstwaldの階段 則に従って準安定相転移させ,狙った準安定相に至る反 応経路を設計できるかもしれない.

炭素族クラスレートの場合,ゲスト分子がケージ構成 元素の一部と置きかわる,いわゆるセミクラスレート化 が頻繁におこる.また,クラスレートハイドレートの場 合と違い,ケージを構成する元素を2種類以上に増やせ るので,格子の歪みの大きい部分を緩和し, μ⁰を調節 して,クラスレートハイドレートでは不安定な HS-I 構 造を安定化できるかもしれない.現在の理論の限界を越 えた,新しい結晶構造が得られる可能性はある.炭素族 クラスレートは物性材料としての応用範囲が広いので, 準安定相を創製することによる利点はクラスレートハイ ドレートに比べても大きい.

11. 注釈

- 構造 I, II, Hと呼ばれることが多いが、本稿では Dyadinら (1987)の構造分類に従う. C, Hはcubic (立方晶)および hexagonal (六方晶)を意味する.
- ¹¹ Tは tetragonal (正方晶)を意味する.
- ^{III} HS-III は四員環を含むので, Frank-Kasper 構造ではな い.
- ^{iv} 最近, Dutour Sikirić et al. (2010) が Yarmolyuk らの経 験則に従わない Frank-Kasper 構造を発見したが,実在の 物質でそのような構造は見付かっていない.
- v これらは Laves 相とも呼ばれる.
- vi ほかに, 非 Frank-Kasper 型の結晶構造がいくつか見付 かっている.
- *¹¹水に比べて、結合がはるかに強いので、常温付近では、振動の自由エネルギーの寄与は小さく、自由エネルギーはポテンシャルエネルギーで代替できる。

参考文献

- Adams, G., O'Keeffe, M., Demkov, A., Sankey, O., and Huang, Y.-M. (1994). Wide-band-gap Si in open fourfoldcoordinated clathrate structures. *Phys. Rev. B* 49 (12), 8048–8053.
- Dutour Sikirić, M., Delgado-Friedrichs, O., and Deza, M. (2010) Space fullerenes: a computer search for new Frank-Kasper structures. *Acta Crystallogr. A* 66 (Pt 5), 602-615.
- Dyadin, Yu. A., and Udachin, K. A. (1987) Clathrate poly-

hydrates of peralkylonium salts and their analogs. J. Struct. Chem. 28 (3), 394-432.

- Frank, F. C., and Kasper, J. (1959) Complex alloy structures regarded as sphere packings. II. Analysis and classification of representative structures. *Acta Crystallogr.* **12** (7), 483-499.
- Hellner, E., and Pearson, W. B. (1987) Coordination formulation of tetrahedrally close packed structures: An addendum to the observations of Yarmolyuk and Kripyakevich. J. Solid State Chem. 70, 241–248.
- Hirschfelder, J. O., Curtiss, C. F., and Bird, R. B. (1954) *Molecular Theory of Gases and Liquids*, Wiley, New York, USA.
- Koga, K., Tanaka, H., and Nakanishi, K. (1994) On the Stability of Clathrate Hydrates Encaging Polar Guest Molecules: Contrast in the Hydrogen Bonds of Methylamine and Methanol Hydrates. *Mol. Simul.* 12 (3-6), 241–252.
- Kosyakov, V., & Polyanskaya, T. M. (1999) Using structural data for estimating the stability of water networks in clathrate and semiclathrate hydrates. *J. Struct. Chem.* 40 (2), 239–245.
- Koyama, Y., Tanaka, H., and Koga, K. (2005) On the thermodynamic stability and structural transition of clathrate hydrates. J. Chem. Phys. 122, 074503.
- Manakov, A. Yu., et al. (2004) Structural Investigations of argon hydrates at pressures up to 10 kbar. *J. Inclusion Phenom. Macrocyclic Chem.* 48, 11-18.
- Matsumoto, M. (2010) Four-Body Cooperativity in Hydrophobic Association of Methane. J. Phys. Chem. Lett. 1 (10), 1552–1556.
- Matsumoto, M., and Tanaka, H. (2011) On the Structure Selectivity of Clathrate Hydrates. J. Phys. Chem. B 115 (25), 8257-8265.
- Matsumoto, M. and Tanaka, H. (2012) Metastable polymorphs of clathrate hydrate. J. Phys. Soc. Jpn., 81 Suppl. A, SA005.
- Sloan, E. D. and Koh, C. A. (2008) Clathrate Hydrates of Natural Gases, 3rd ed., CRC Press, Boca Caton, FL, USA.
- Stillinger, F. H., and Weber, T. A. (1985) Computer simulation of local order in condensed phases of silicon. *Phys. Rev. B* **31 (8)**, 5262.
- Tanaka, H., and Kiyohara, K. (1993) On the thermodynamic stability of clathrate hydrate. I. J. Chem. Phys. 98 (5), 4098-4109.
- Tanaka, H., and Kiyohara, K. (1993) The thermodynamic stability of clathrate hydrate. II. Simultaneous occupation of larger and smaller cages. J. Chem. Phys. 98 (10), 8110–8118.
- Tanaka, H. (1994) The thermodynamic stability of clathrate hydrate. Encaging non-spherical propane molecules. *Chem. Phys. Lett.* **220**, 371–376.
- Tanaka, H. (1994) The thermodynamic stability of clathrate hydrate. III. Accommodation of nonspherical propane and ethane molecules. *J. Chem. Phys.* 101 (12), 10833-10842.

- Tanaka, H., Nakatsuka, T., and Koga, K. (2004) On the thermodynamic stability of clathrate hydrates IV: Double occupancy of cages. J. Chem. Phys. 121, 5488.
- van der Waals, J. H. and Platteeuw, J. C. (1959) Adv. Chem. Phys. 2, 1.

Yarmolyuk, Ya. P. and Kripyakevich, P. I. (1974) Kristallo-

grafiya 19, 539.

- Yang, L., Tulk, C., Klug, D., et al. (2009). Synthesis and characterization of a new structure of gas hydrate, *PNAS* **106** (15), 6060-6064.
- 山中昭司 (2007) 化学 62, 66-67.

Filled ice Ic 水素ハイドレートの 低温高圧下における相変化

平井 寿子¹⁾,香川 慎伍¹⁾,田中 岳彦¹⁾,松岡 岳洋²⁾, 八木 健彦³⁾,大石 泰生⁴⁾,山本 佳孝⁵⁾,大竹 道香⁵⁾

2012年9月11日受付, 2012年12月24日受理

水素ハイドレート高圧相(filled ice Ic 構造)についてダイヤモンドアンビルセルとヘリウム冷凍 クライオスタットを用いて低温高圧実験を行った.温度圧力条件は5から55GPa および30から 300Kである.X線回折によって低温高圧下でfilled ice Ic 構造は cubic から tetragonal に相変化 し、両相の存在領域が推定された.また、この tetragonal 構造の軸比は温度圧力に依存して変化す ることも観察された.これらの結果は第一原理計算によって予測された結果を実験的に検証するもの である.Tetragonal 構造形成の誘因はゲスト水素分子の回転モードが無秩序から変化したことによ ると推測された.さらに、50GPa 以上では温度に依存せず別の高圧相の存在が示された.

Lowering symmetry of filled ice Ic hydrogen hydrate under low temperatures and high pressures

Hisako Hirai¹, Shingo Kagawa¹, Takehiko Tanaka¹, Takahiro Matsuoka², Takehiko Yagi³, Yasuo Ohishi⁴, Yoshitaka Yamamoto⁵, Michika Ohtake⁵

Low-temperature and high-pressure experiments were performed with filled ice Ic structure of hydrogen hydrate at the unexplored conditions of 5 to 55 GPa and 30 to 300 K using diamond anvil cells and a helium-refrigeration cryostat. *In-situ* X-ray diffractometry revealed that the cubic filled ice Ic structure transformed to a tetragonal structure at low temperatures and high pressures and the axis ratio of the tetragonal phase changed depending on pressure and temperature. These results were consistent with theoretical predictions determined by first principle calculations. In addition, further change in the lattice parameters was observed from about 45 to 50 GPa, which suggested the existence of a transformation to another high-pressure phase above 50 GPa throughout the temperature region examined. The reason for transforming to the tetragonal structure was inferred; it might be induced due to changes in the vibrational or rotational modes of the hydrogen molecules under low temperature and high pressure.

1. はじめに

元素の宇宙存在度からすると水素と水は最も多く存在 する物質であり、その水素と氷からなる水素ハイドレー トは太陽系内氷天体や系外惑星・衛星、さらにプロトス ターなどに広く存在の可能性が指摘されている^{1,2)}.ま た、水素ハイドレートの1つ(クラスレート sII)は最 近の水素利用技術において、水素貯蔵媒体として注目さ れている^{3,4}).水素ハイドレートを含むガスハイドレートは色々なゲスト種を内包し多様な相を形成することが 知られ⁵⁻¹⁰),ゲストサイズや圧力に依存した相変化のア ウトラインが提案されている^{11,2}).クラスレート構造は 水素結合した水分子によりケージ(ホスト)が形成さ れ,そのケージに内包されたゲスト分子や原子によって 成り立っている⁵⁾.高圧になると幾つかのクラスレート 構造は filled ice 構造に変化する^{13,14}).これらのハイド

- 3) 東大物性研
- 4) IASRI
- 5) AIST

² KYOKUGEN, Osaka University

- ³ Institute for Solid State Physics, Tokyo University
- ⁴ Japan Association of Synchrotron Radiation Institution
- ⁵ National Institute of Advanced Industrial Science and Technology

¹⁾ 愛媛大学 GRC

²⁾ 阪大極限センター

¹ Geodynamics Research Center, Ehime University

レート構造の結晶学データは報告された実験を基にまと められている¹⁵⁾.

水素ハイドレートには従来3つの相が知られている (図1).1つはクラスレート(sII)で²⁾,他は2つの filled ice 構造である^{16,17)}.sII はよく知られているよう に16 個の12 面体と8 個の16 面体よりなる.かつては 平衡実験データより生成は指摘されているものの¹⁸⁾,水 素分子はサイズが小さいためクラスレート構造は形成さ れないと考えられてきたが,近年,低温下で4つの水素 分子がクラスターを作り16 面体を占有することにより, クラスレート sII 構造が形成されることが明らかとなっ た^{2,19)}. filled ice 構造とは氷の多形をホストとして,そ の間隙に水素分子が取り込まれた構造である.水素ハイ ドレートには氷IIをホストとする filled iceII (C1 (compoundl) と名づけられている)と氷 Ic をホストとする filled ice Ic (C2 (compound2))とが存在する^{16,17)}. C1 はヘリウムもこの構造を形成することが報告されてい る²⁰⁾. C2 は氷 \mathbf{W} の片方の氷のサブセルを無秩序に回転 している水素分子で置き換えたような構造ととらえるこ とができる.そのため,H₂:H₂O は1:1であり,C1 の それは1:6 である.C1 は室温下で約 0.9 GPa で生成 し,2.5 GPa 以上で C2 に相変化する.本研究ではこの C2 を取り扱う.

室温下における filled ice Ic 構造水素ハイドレート



図1:水素ハイドレートの構造モデルと従来報告された存在領域 Fig.1:Illustrations of structural models of three hydrogen hydrates and their stable regions reported previously²⁵⁾.

(以後, HH-C2 と記す) に関しては多くの研究がなさ れて、興味ある現象が報告された.たとえば HH-C2 は 少なくとも 90 GPa 以上まで(室温下で)存続し,約 40 GPa で構造変化が起きることや特異的な相互作用が働 いていること、またその同位体効果が報告された21-23). 一方,低温高圧下の挙動に関する報告は以下の2つ以外 にはなく極めて限られたものであった^{24,25)}.1つは,一 連の相変化 (sII \rightarrow C1 \rightarrow C2), すなわち, クラスレー トから filled ice への変化が低温下で起きることは予測 されていたが26,27),実験的に直接観察した報告はなかっ たが、この変化がX線回折(XRD)によって、>125 K, <5.5 GPa の条件で確かめられた²⁴⁾.他は近年,5 GPa以下でさらに低温領域約10Kまで実験が行われ, C1は1 GPaで80Kまで存続すること, C2は4GPa で11Kまで存続すること、そして、HH-C1とsIIの間 の狭い圧力範囲に新たな低温相の存在が報告された²⁵⁾. このように低温下における5 GPa 以下の相変化は明ら かにされてきたがが、5 GPa以上の圧力領域では実験 的研究はなされていなかった.

HH-C2 は基本構造が氷 Ic であるため, Vos et al の 報告^{16,17)} 以来 cubic と考えられていた.しかし,最近第 1 原理計算による理論研究によって,低温高圧下で cubic から tetragonal に相転移すること,そして,tetragonal の性質は圧力,温度に依存して変化することが 予測された²⁸⁾.しかし,このことは実験的に検証されて いなかった.

本研究では水素ハイドレートの未だ研究されていない 5GPa以上の低温高圧領域での相変化を探査すること, 理論予測された tetragonal 相の存在を実験的に見出す こと,そしてその tetragonal 相の存在領域を調べるこ とを目的として低温高圧実験を行った.

2. 実験方法

圧力発生には BeCu 製のクランプ式ダイヤモンドアン ビルセル (DAC) を,低温発生にはヘリウム冷凍クラ イオスタットを用いた.アンビルのキュレット径は 250 と 350 μm で,ガスケットは水素との反応を避けるため

Reを用いた. 圧力測定はルビー蛍光法とダイヤラマン 法29)を併用した.温度測定は予めキャリブレーション した Si 半導体温度計や熱電対を用いた. 圧力の制御は メンブレンを用いて He ガス圧により行った.本実験の 圧力範囲は5から55GPa,温度範囲は30から300K である. 良質の XRD パターンを得るため幾つかの試料 では CO_2 レーザーによる試料のアニールをおこなった. 試料水素ハイドレートはガス詰め法によって合成した. 超純水と圧力マーカーのルビーボールと気泡を DAC 試 料室に入れ、これをガス詰装置にいれ、気泡部分を150 MPa に加圧した超臨界水素流体と置換させた.水と水 素流体の体積比は約60:40から70:30で, C2に対し ては水成分が多くなり、C2形成後には過剰の水が氷 WI (室温)あるいは氷皿(低温)として存在することにな る.図2はガス詰直後と圧力を制御させながら室温下で C1 と C2 が形成される過程を示している.

評価は放射光を用いたX線回折法 (SPring-8 BL10XU) によっておこなった.回折パターンはイ メージングプレートで2次元パターンを得, IP Analyzer³⁰⁾で1次元化し、フィッティングソフト (FITYK)を用いてピーク分離した.5試料を用いて低 温高圧力領域の11のパスで実験を行った(図3).

3. 実験結果

図4は室温下 6.5 から 46.6 GPa までの(図3パス ①) XRD パターンの圧力依存の変化である.20 GPa 以下ではすべての回折線は cubicの HH-C2(以下 cubic HH-C2と記す)及び氷 WIとして説明できる.20 GPa 以上で cubic 構造の 220 の回折線が高角側にショ ルダーを持ち始め,圧力の上昇に伴ってスプリットの量 が増え明瞭になる.これらの回折線は tetragonal 構造 の 202 と 220 として指数付けできる.また 25 GPa 以上 では cubic 構造の 311,400,331 にダブレットの回折線 が観察され始め,これらは tetragonal 構造の 311 と 113,400 と 004,331 と 313 として指数付けできる.一 方 111 はスプリットしない.スプリットの程度は圧力の 上昇に従って大きくなり,34.7 から 36.9 GPa で最大と



図2:DAC 内試料の状態,いずれも室温.a:ガス詰め直後,b:1.5 GPa,c:4.5 GPa Fig.2:Optical micrographs showing sample rooms at room temperature. a: after gas loading, b: 1.5 GPa, c: 4.5 GPa.



図3:実験パス 色の違いは試料の違いを示す. Fig.3:Experimental paths. Eleven paths were performed for five samples. Different colors indicate different samples used. Along the dotted lines XRD measurements were not made.

なる.その後減少し,45.0から46.6 GPaではほとんど スプリットは見えなくなる.一方これらの圧力で111の ピークの形が非対称となってくるのが観察される.減圧 させていくとスプリットは45 GPaから20 GPaまで観 察され,20 GPa以下ではスプリットは閉じ,cubicの 回折パターンに戻る.スプリットとその閉じは圧力上昇 と下降に対してリバシブルに起きた.我々の以前の室温 下 80 GPaまでの実験では,220の同様のスプリットが 40 GPaで,111のスプリットが60 GPa以上で観察され ていたが,その実験では回折線の数が少なく対称性は決 めることはできなかった²¹⁾.本実験の室温では50 GPa までの測定であるが,この結果は以前の結果と実験範囲 内で調和的である.代表的なスプリットした回折線の ピーク分離を図5に示す.cubicのシングルピークがダ ブレットになっているのが明瞭に示されている.

図 6 左は 100 K において圧力を 24.5 から 55.5 GPa まで上昇させた過程(図 3 パス④)での XRD パターン の変化である. 220, 311, 400 の回折線は 24.5 GPa で スプリットしており, 42 GPa でその量は最大に達し, その後閉じ始め 48.9 GPa と 55.5 GPa ではほとんど評 価できないほどになる.また,この時 111 は非対称にな る.約 48.9 GPa 以上の変化は,300 K において観察さ れたと同様に別の高圧力相への相転移を示唆している. 次に圧力を大体固定して温度を 270 から 74 K (図 3 パ ス⑧)まで下げると,220 と 311 の回折線が 170 K 以下 でスプリットを始め,74 K までスプリットは拡大する.



図4:300 K における XRD パターンの圧力変化.赤と青の矢印はそれぞれスプリットした tetragonal 相の回折線と高圧相の回折線を示す.

Fig.4 : Changes in XRD patterns with pressures from 6.5 to 46.6 GPa at 300 K. Red arrows show the splitting diffraction lines of the tetragonal phase and blue arrows show those of the HP-phase.



図5:ピーク分離の例. 左:220 (34.7 GPa, 300K), 右: 311 (24.9 GPa, 300K)

Fig.5 : Peak fitting of the split 220 and 311 peaks at 34.7 GPa and 300 K (left) and at 24.9 GPa and 300 K (right).

温度を 84 から 300 K まで上昇させると(図 3 パス⑨) スプリットは約 250 K まで観察され,250 K 以上では閉 じ,cubic のパターンとなった(図 6 右). 圧力約 41 GPa で温度を 300 から 90 K (図 3 パス⑤)まで下げる 過程では、すべてのパターンにおいてスプリットが観察 され、一方、圧力7 GPa で温度を 300 から 30 K (図 3 パス⁽¹⁰⁾) まで下げた過程ではすべてのパターンでスプ リットは観察されず、cubic のパターンであった.84 K では 10 GPa 以上でスプリットが観察され、この圧力以 上で相変化が示された.観察された相変化をまとめる と、図7 のようになる.

ピーク分離して得られた d-値から格子定数を求め, その圧力変化を 300 K と 100 K について示す(図 8). 300 K で は 20 GPa 以下 は HH-C2 は cubic として (cubic HH-C2), 20 GPa 以上では tetragonal (tetra HH-C2) として同定された(図 8 上). cubic の一つの 軸が伸び tetragonal になっているが, a 軸と c 軸の圧 力変化が異なり,これは軸比が圧力によって変化するこ とを示している.図は c 軸の方が圧縮率が低い,すなわ ち縮みにくい構造になっていることを示している.300 K で観察された格子定数変化や軸比変化は 45 GPa まで は,理論予測された変化とよく一致した²⁸⁾.20 GPa で の cubic から tetragonal への構造変化において,本実 験のデータ点数や測定精度からは体積変化の飛びは観察 されず連続的であり,この変化は 2 次の相転移の可能性 を示唆している.100 K では tetragonal 構造への相変



図6: 左:100 K における XRD パターンの圧力変化.右: XRD パターンの温度変化.赤と青の矢印 は図4のそれと同じ.

Fig.6: (left) Changes in XRD patterns with pressure from 24.5 to 55.5 GPa at 100 K. (right) Changes in XRD patterns with increasing temperature from 84 to 300 K. Red and blue arrows are similar to those in figure 4.



図7:相変化のまとめ、青菱形、緑四角、ピンク丸印はそれ ぞれ、cubic、tetragonal および高圧相を示す. **Fig.7**: Summary of phase changes incorporating all experimental data. The solid blue rhombuses, green squares, and pink circles indicate the cubic, tetragonal, and highpressure phases, respectively. The open pink circles indicate the high-pressure phase reported previously²¹⁾. The open green square at 0 K indicates the calculated tetragonal phase²⁸⁾.

化はより低い圧力で始まり, c軸の圧縮率がa軸より小 さいことは 300 K と同じであった(図 8 下).理論計算 は 300 と 0 K においてしかなされていなかったが,実 験結果は 55 GPa までは基本的には理論計算と調和的で あった. a軸と c軸に分離した格子定数が 55 GPa で再 び一致してくることが図 8 にも現れている.55 GPa 以 上の相に関しては後で述べる.

4. 考察

観察されたすべての実験データから, filled ice Ic は 低温高圧下で tetragonal 相 (tetra HH-C2) に相変化 すること,そして,図7に示すようにこの tetragonal 相は広い低温高圧領域に安定して分布することが明らか となった.cubic 相 (cubic HH-C2) と tetragonal 相 (tetra HH-C2) の分布から両相の境界は図7上の点線 で示すようにおおむね 300 K では約 20 GPa, 200K で は約 15 GPa, 100K では約 10 GPa を通ると推定され



図8:300K(上)と100K(下)における格子定数変化. Fig.8: Variation of lattice parameters with pressure change at 300 K (top) and 100 K (bottom).

た.また,観察された格子定数や軸比の圧力変化は45 GPa以下では理論計算とよい一致を示した.従って, 本研究結果は理論予測を実験的に検証したということが できる.

50 GPa 以上では本実験結果は理論計算結果と異なっ た.本実験では a 軸と c 軸の長さが, 300 K では約 45 GPa で, 100 K では 50 GPa で再び同程度になった. 一方,理論計算では a 軸と c 軸の違いが約 20 GPa で始 まり, 圧力とともに次第に差が大きくなり, 55 GPa 以 上では大きく離れていく. この格子定数は同じ tetragonal 構造として計算されている28). 本実験で45から50 GPa で観察された格子定数の同一化は,理論計算で示 されるような同じ tetragonal 構造内での軸変化と見る より28),別の高圧相への転移の始まりを示していると, 以下に述べる結果から考えられる.以前の室温下80 GPa までの実験では、同様な 220 回折線の高角側への スプリットを約40GPaで観察し、このスプリットは約 50 GPa で一旦閉じ, 55 GPa 以上で再び低角側にスプ リットし、60 GPa 以上で 111 がスプリットすることを 観察している²¹⁾. この実験結果は明瞭に室温 50 GPa 以

上で別の高圧相が存在することを示している.従って, 本実験の45から50GPaで観察された結果はこの高圧 相への転移の始まりに相当すると考えられる.本実験条 件は50GPa以下であり,この高圧相とtetragonal相 (tetra HH-C2)との境界を正確に決定することはでき なかった.この高圧相の構造に関しては明らかにされて いないが,水素結合対称化に関連した構造と想像され る.

Tetragonal 相(tetra HH-C2) 形成の原因について 以下のように解釈される.以前の我々の実験では,40 GPa になって観察され始めた XRD の変化(220 のスプ リット)をフレームワークの水素結合対称化に関連する ものと解釈した.この根拠は cubic としての格子定数か ら算出した酸素-酸素間距離に基づくもので,実験的に 原子位置を決めたものではない²¹⁾.しかし、本実験で同 様の XRD の変化が 300 K では 20 GPa で, 200 K では 15 GPaで、100 Kでは10 GPaで観察された.もし、 この変化が水素結合対称化によってもたらされるもので あれば、水素結合対称化が低温下では 10 GPa という低 い圧力で起きることになる、しかしながら、このような 低圧では酸素-酸素間距離は対称化が期待される距離³¹⁾ よりずっと長くなってしまう. 従って, tetragonal 相 (tetra HH-C2)の形成には別のより妥当な説明が必要 と考えられる. cubic HH-C2 構造中での水素分子の振 動モードは常温下では無秩序回転状態にあるとされてい る¹⁶⁾.しかし、この振動あるいは回転モードが低温高圧 下で変化することは十分ありうることである. そのよう な回転モードの変化(秩序化)が cubic 格子の変形を誘 起し, tetra HH-C2 が形成されたと解釈することがで きる.

5. おわりに

本稿の作成中に本稿で述べた実験による研究と理論計 算による研究²⁸⁾とがほぼ同時に Journal of Chemical Physics に公表された^{32,33)}. 理論計算によって tetragonal 構造は水素分子の秩序化であることが示されてい る.実験屋としての次の課題はラマン分光などによる秩 序化の実験的検証や,中性子回折実験による tetragonal 構造の詳細を決定することであり,さらなる理論計 算も必要と考えられる.

参考文献

- A. Sandford, L. J. Allamandola, and T. R. Geballe, Science, 262, 400 (1993).
- W. L. Mao, Ho-k. Mao, A. F. Goncharov, V. V. Struzhkin, Q. Guo, J. Hu, J. Shu, R. J. Hemley, M. Somayazulu, and Y. Zhao, Science, 297, 2247 (2002).

- V. V. Struzhkin, B. Militzer, W. L. Mao, Ho-k. Mao, and R. Hemley, Chem. Rev., 107, 4133 (2007).
- H. Lee, J. Lee, D. Y. Kim, J. Park, Y. Seo, H. Zeng, I. L. Moudrakovski, C. I. Ratcliffe, and J. A. Ripmeester, Nature, 434, 743 (2005).
- E. D. Sloan and K. A. Koh, *Clathrate Hydrates of Natural Gases* 3rd ed, (Taylor & Francis, London, New York, 2008) pp.45, 257, 320, and 537.
- J. A. Ripmeester, J. S. Tse, C. I. Ratcliffe, and B. M. Powell, Nature, **325**, 135 (1987).
- J. S. Loveday, R. J. Nelmes, M. Guthrle, S. A. Belmonte, D. R. Allan, D. D. Klug, J. S. Tse, and Y. P. Handa, Nature, 410, 661 (2001).
- A. V. Kurnosov, A. Y. Manakov, V. Y. Komarov, V. I. Voronin, A. E. Teplykh, and Y. A. Dyadin, Dokl. Phy. Chem., 381, 303 (2001).
- H. Hirai, Y. Uchihara, H. Fujihisa, M. Sakashita, E. Katoh, K. Aoki, K. Nagashima, Y. Yamamoto, and T. Yagi, J. Chem. Phys. 115, 7066 (2001).
- H. Hirai, Y. Uchihara, Y. Nishimura, T. Kawamua, Y. Yamamoto, and T. Yagi, J. Phys. Chem. B, **106**, 11089 (2002).
- H. Hirai, T. Tanaka, T. Kawamura, Y. Yamamoto, and T. Yagi, J. Phys. Chem. Solid, 65, 1555 (2004).
- R. J. Nelmes, D. D. Klug, J. S. Tse, S. Desgreniers, and J. S. Loveday, Canadian J. Phys., 81, 539 (2003).
- J. S. Loveday, R. J. Nelmes, M. Guthrie, D. D. Klug, and J. S. Tse, Phys. Rev Lett., 87, 215501 (2001).
- 14. H. Hirai, T. Tanaka, T. Kawamura, Y. Yamamoto, and T. Yagi, Phys. Rev. B, **68**, 172102 (2003).
- 15. J. S. Loveday and R. J. Nelmes, Phys. Chem. Chem. Phys., **10**, 937 (2008).
- W. L. Vos, L. W. Finger, R. J. Hemley, and H. K. Mao, Phys. Rev. Lett., 71, 3150 (1993).
- W. L. Vos, L. W. Finger, R. J. Hemley, and H. K. Mao, Chem. Phys. Lett., 257, 524 (1996).
- Y. A. Dyadin, E. G., Larionov, A. Y. Manakov, F. V. Zhurko, E. Y. Aladko, T. V. Mikina, and V. Y. Komarov, Mendeleev Communications, 9, 209 (1999).
- K. A. Lokshin, Y. Zhao, D. He, W. L. Mao, Ho-K. Mao, R. J. Hemley, M. V. Lobanov, and M. Greenblatt, Phys. Rev. Lett., **93**, 125503 (2004).
- D. Londono, W. F. Kuhs, and J. L. Finney, Nature, 332, 141 (1988).
- S. Machida, H. Hirai, T. Kawamura, Y. Yamamoto, and T. Yagi, J. Chem. Phys., **129**, 224505 (2008).
- 22. S. Machida, H. Hirai, T. Kawamura, Y. Yamamoto, and T. Yagi, J. Phys. Chem. Solids, **71**, 1324 (2010).
- 23. S. Machida, H. Hirai, T. Kawamura, Y. Yamamoto, and T. Yagi, Phys. Rev. B, **83**, 144101 (2011).
- 24. H. Hirai, A. Umeda, T. Fujii, S. Machida, A. Shinozaki, T. Kawamura, Y. Yamamoto, and T. Yagi, Abstract MR43A-2114 presented at AGU fall meeting, San Francisco, USA, 5-9 December, 2011.
- 25. T. A. Strobel, M. Somayazulu, and R. J. Hemley, J. Phys. Chem., C 115, 4898 (2011).
- 26. W. L. Mao and Ho-k. Mao, PNAS, 101, 708 (2004).

- 27. K. A. Lokshin and Y. Zhao, Appl. Phys. Lett., 88, 131909 (2006).
- J. Zhang, J. Kuo, and T. Iitaka, Abstract SMP057-16 presented at JpGU Meeting 2010, Chiba, Japan, 23-28 My, 2010.
- 29. Y. Akahama and H. Kawamura, J. Appl. Phys., 96, 3748 (2004).
- 30. 瀬戸雄介, 浜根大輔, 永井隆哉, 佐多永吉, 高圧力の科

学と技術,20,269 (2010).

- 31. P. Pruzan, J. Mol. Struct., 322, 279 (1994).
- 32. H. Hirai, S. Kagawa, T. Tanaka, T. Matsuoka, T. Yagi, Y. Ohishi, S. Nakano, Y. Yamamoto, and T. Irifune, J. Chem. Phys. 137, 074505 (2012).
- J. Zhang, J-L Kuo, and T. Iitaka, J. Chem. Phys. 137, 084505 (2012).

水素クラスレートハイドレートの水素吸収反応速度と固体内拡散

奥地 拓生¹⁾

2012年9月7日受付, 2012年12月17日受理

水素クラスレートハイドレートの水素貯蔵物質としての可能性が注目されている.その実用化のた めには、水素貯蔵能力の向上とあわせて、水素の吸収・放出反応に必要な時間をできるだけ短縮する こと、また水素の吸収・放出反応の多数回の繰り返しを可能にすることが必要である.後者の課題を 研究するために、耐圧容器中で水素ガス圧力下にあるテトラヒドロフランクラスレートハイドレート の高分解能核磁気共鳴分光(NMR)を行い、スペクトルの時間変化を追うことで、水素の吸収と放 出の速度を観測した.さらに NMR とパルス磁場勾配を組み合わせることで、水素の固体内拡散定 数を温度と圧力の関数として測定した.得られた拡散定数は10⁻⁸ cm/sを超え、固体中の分子拡散と しては異常に大きな値であった.以上の反応速度と拡散定数の両面の結果から、クラスレートハイド レート固体粉末への水素の貯蔵・放出の反応が、従来の手法よりもはるかに速い、数十分程度の時間 で完了できることを立証した.

Hydrogen absorption reaction kinetics and diffusion measurements in hydrogen clathrate hydrate at high pressure

Takuo Okuchi¹

Kinetics of hydrogen clathrate hydrate synthesis is essential for its expected application of hydrogen storage. Its conventional production scheme was by freezing promoter's solution contacting with pressurized hydrogen gas; it then takes long time for crystal growth. We have established an alternative scheme to store hydrogen into the clathrate hydrate; when hydrogen-free clathrate hydrate powder was contacted with pressurized hydrogen gas, hydrogen was quickly absorbed into the hydrate medium. We observed the reaction rate of hydrogen absorption by nuclear magnetic resonance spectroscopy as a function of hydrogen pressure and temperature. In our experimental conditions of pressures up to 20 MPa, the storage into the clathrate hydrate was completed within 80 minutes. We found that stored hydrogen are still mobile within the clathrate hydrate crystals, indicating that hydrogen can be repeatedly stored and released by cycling the hydrogen gas pressure. The diffusion coefficient of hydrogen was measured using a pulsed field gradient. It gives very large value of > 10^{-8} cm²/s, which is consistent with the observed fast absorption reaction of hydrogen storage into the clathrate hydrate.

1. はじめに

極性のないガス分子が水や氷と特定の条件で反応をす ると、氷とよく似た透明な固体の結晶をつくることはよ く知られている.この化合物結晶がいわゆるガスハイド レートである.ガスハイドレートを構成する水分子は、 水素結合のネットワークによって互いに結ばれている. そこでは純粋な氷と同様に、水分子が正四面体方向に隣 接するように配列するが,三次元ネットワークの幾何学 が氷とは異なっていて,より大きな空隙を持つ「ケー ジ」がつくられている(図1).ガスハイドレートを構 成するガス分子は,水分子と化学結合せずにケージの空 隙を占有する.つまりケージにガス分子が取り込まれて 空間がより有効に使われるために,系の自由エネルギー が減少することが,ガスハイドレートが生成する反応が 起こる理由の一つである.そしてガスの圧力が充分に高 い場合には,これが最大の理由になる.

クラスレートハイドレート(包接化合物)とは,この ようなケージ構造型のガスハイドレート全体を表す言葉 である.上記の特徴からわかるように,クラスレートハ

¹⁾ 岡山大学地球物質科学研究センター

¹ Institute for Study of the Earth's Interior, Okayama University, Misasa, Tottori, Japan



図1:クラスレートハイドレートの12面体ケージの構造. Fig.1:Structure of dodecahedron cage in clathrate hydrate.

イドレートの構造中には、周囲と化学結合をつくらない 状態のガス分子を大量かつ安定に貯蔵することが可能で ある.水素を含むクラスレートハイドレートはこの意味 で特に注目される物質である.水素のガスハイドレート には、クラスレートハイドレート構造に加えて、純粋な 氷に近い構造が存在する(図2).後者は前者よりも高 密度であって、水素のガスハイドレートとしては後者が 最初に発見され(Vos et al., 1994),前者の発見はその 後であった(Mao et al., 2002; Lokshin et al., 2004). 両構造の間には水分子がつくるネットワーク構造に質的 な違いがあり、高密度の構造では空隙の大きさがごく小 さいので、そこに入ることができるガス分子の種類は限 定される.水素はごく小さな空隙にも入り込めるため に,ガスハイドレートの構造がこのような多様性を持つ ことになる(奥地,2009;佐々木ほか,2011).このよ うに多様な水素のガスハイドレートの物質系において は,物性科学や惑星科学の視点における研究が活発に進 められている(奥地,2007;Okuchi et al., 2007a; Hirai et al., 2012; Zhang et al., 2012).

2. 水素クラスレートハイドレートへの水素貯蔵

水素クラスレートハイドレートのケージ構造は,水分 子が作る5角形と6角形が組み合わさってできた、16 面体(大ケージ)と12面体(小ケージ)の集合によっ て成り立っている (structure II, 空間群 Fd-3m, 格 子定数~1.7 nm). 大ケージと小ケージが1:2の比率 で組み合わされることで、ケージ構造だけで空間をすき まなく埋めつくす配置が実現される.両種のケージにと もに水素が詰まった、純粋な水素クラスレートハイド レートの合成には、-20°C程度以下の温度と、100 MPa 程度の高い水素圧が必要である(図2).この条件では, 大ケージには同時に4分子の水素が取り込まれ、小ケー ジには1分子の水素が取り込まれる.両者をあわせると 3.8 wt.%の水素が化学結合せずに結晶構造中に吸収さ れることになる.また,高密度の構造の水素ハイドレー トには,最大で10 wt.%もの水素が吸収されうるが,そ のためには一桁以上高い,2300 MPa の圧力が必要であ る (図2).

クラスレートハイドレート構造中の水素濃度を高い値 に維持しつつ、そこへ水素を入れるために必要な圧力を 下げることは、その応用のためには特に重要な課題であ る.この課題を解決すべく研究が進められた結果、大



図2:水素のガスハイドレートの状態図と結晶構造. Fig.2: Phase diagram of the H₂-H₂O system.

ケージに水素以外の分子(プロモーター)を取り入れる ことで、クラスレート構造を保持しながら水素吸収圧力 を10 MPa 程度にまで下げる方法が発見された(Florusse et al., 2004).だがこの方法では大ケージを占有す る水素とプロモーターが完全に置換するので、水素貯蔵 濃度が1 wt.%程度にまで大きく減少してしまう.そこ で、さらにプロモーターの種類および濃度を細かく調整 して置換の割合を減らし、少しでも多くの水素を貯蔵で きるようにする方法が、その後実現されてきた(Lee et al., 2005).現在では30 MPa 程度の水素圧力下で3 wt.%程度の水素濃度のクラスレートハイドレートが実 験室で合成できるようになっている(Sugahara et al., 2009; Lu et al., 2012).

3. 水素クラスレートハイドレートの水素吸収反応速度と固体内拡散

3.1 観測手法

クラスレートハイドレートへの水素貯蔵の実用化のた めには、以上のような水素貯蔵能力の向上とあわせて、 水素の吸収・放出反応に必要な時間をできるだけ短縮す ること、また水素の吸収・放出反応の多数回の繰り返し を可能にすることも必要不可欠である.この問題をきち んと研究するためには、様々な温度・圧力条件下におけ る水素クラスレートハイドレートの水素吸収・放出反応 を時間の関数として観測する方法をつくる必要があっ た.そこで我々は NMR (Nuclear Magnetic Resonance;核磁気共鳴分光)を応用することで、クラス レートハイドレート構造への水素の吸収反応及び、吸収 された水素の固体内での拡散定数を高圧その場で観測す る実験を行った (Okuchi et al., 2007b).その内容を以 下に説明する.

3.2 実験方法

水素ガス封圧下におけるクラスレートハイドレート試 料の高分解能 NMR スペクトルの時間変化を調べるこ とによって,その水素吸収・貯蔵・放出の過程を調べ た. 試料容器には耐圧 20 MPa, 外径 10 mm, 内径 5 mmの単結晶サファイアのチューブを用いた. 耐圧容 器を用いることで, ガスハイドレート試料に水素圧力を かけた状態での NMR 観測を初めて実現した.まず代 表的なプロモーター分子である THF (tetrahydrofuran) を特定の割合で含む水溶液を凍結させ、その後に粉砕す ることで、100~150 µm 程度の粒径で水素を含まない sII 構造クラスレートハイドレートの粉末を作成した. THF は大ケージのみを占有するので, 空のままの小 ケージにあとから水素ガスが入ることは可能であると考 えた.この粉末を入れて冷却した耐圧容器を,金属配管 によって手動式の加圧ポンプと接続した後に,200 MHz 共鳴周波数の高分解能¹H-NMR プローブ内に挿 入した(図3).その後,容器内部の水素ガスの圧力を ポンプの操作によって増加,維持または減少させた後 に,NMRスペクトルの時間変化を継続的に測定した. この手法により,スペクトルの形状の変化を追うこと で,サファイアチューブ内に存在する水素の存在形態の 時間的変化をその場で観測することを試みた.

NMR 測定は水素を含まないクラスレートハイドレー トの融点よりも低い温度において行った. つまり水素の 吸収の量に関わらず、クラスレートハイドレートは固体 の状態であった. 固体媒質への水素の吸収には固体内で の拡散が必須である.そこで NMR スペクトルの時間 変化の観測とあわせて、試料にパルス磁場勾配を加えな がらスピンエコーの観測を行うことで,水素の固体内で の拡散定数を測定した.ここでパルス磁場勾配を加える 理由は、通常は均質な試料磁場に対して、人工的に一次 元の空間的勾配を付加することで,NMR で観測してい る原子核の磁場勾配方向への移動に伴う共鳴周波数の分 布をあえて生じさせ、それに伴うピークの線幅の拡大を 観測することにある.原子核が移動すればするほど線幅 が広がる関係を利用することで,その拡散定数を正確に 決定することが可能になる.この手法は非接触的に拡散 定数の絶対値が測定できる利点があるが、パルス磁場勾 配の強度に制限があることから,分子の動きが遅い固体



図 3:水素ガス圧力下 NMR の様子.実験はカナダ国立研究 機構にて行った.

Fig. 3 : NMR at hydrogen gas pressure. The experiments were made at Steacie Institute for Molecular Sciences, National Research Council of Canada.

への応用は難しいとされる.しかしパルスの持続時間を 非常に長くとることで,水素の固体内での拡散定数を, 温度と圧力の関数として測定することができた.

以上の二種類の測定を各温度圧力条件で行った後,最 後に封圧を解放したうえで容器を昇温させると,試料の クラスレートハイドレートが融解して,吸収されていた 水素が泡となって放出された(図4).

3.3 結果と議論

水素ガス圧力下での試料の NMR スペクトルの時間 変化からは、水素ガス、クラスレートハイドレート中の 水分子、およびクラスレートハイドレート中の水素分子 の3種類の水素からくるピークを簡単な計算によって分 離することができた.そのうちクラスレートハイドレー ト中の水素の吸収量を示すピークの変化を図5に示す. 図中の数字は、耐圧容器の中の水素ガス圧力を、記載さ れた値にまで上昇させてからの経過時間を分で示したも のである.この二種類の実験条件においては、80分程 度でピークの増加が一段落して、水素の吸収が終了し た.

温度と水素圧力の関数として得られた,水素ガスとの 化学平衡下におけるクラスレートハイドレート固体中の 水素の拡散定数を図6に示す.得られた拡散定数は測定 した温度の下限である250Kにおいても10⁻⁸ cm/sを超 えているが,これは粘性の高い液体中の分子にも匹敵し うる値で,固体中の分子拡散としては異常に大きい.ま た温度依存性が小さいことから,拡散の活性化エネル ギーがわずか3±1kJ/molであることも重要な特徴で ある.このように,温度によらず大きな拡散速度が利点 となって,クラスレート固体粉末への水素の吸収・放出 の反応は,分単位の実用的な速度でほぼ完了できること になる.もともと固体の媒質に対しては結晶の成長を待 つ必要がないので,水素の放出後にすぐに再吸収をさせ ることもできる.つまりそれまでに想定されていた,水 溶液を水素ガスと一緒に結晶化させるよりも,速度と再



図4:耐圧容器内で昇温により融解した水素クラスレートハ イドレート.

Fig. 4 : Melting of clathrate hydrate by increase of temperature. 利用性の両方の点でともに優れた貯蔵方法が新たに確立 された.なお反応が拡散律速であることから,粉末の粒 径を今回の値(100-150 µm)よりも細かくして拡散距 離を減らすことで,吸収速度を上記の80分よりもさら に速くすることは充分に可能だと考えられる.また80 分間の平均拡散距離を求めてみると,拡散定数を3×







Fig. 5 : Time evolution of NMR spectra of H_2 absorbed in the clathrate hydrate.



図 6: クラスレートハイドレート構造中の水素の拡散定数. Fig. 6: Diffusion coefficient of hydrogen in the clathrate hydrate.

 $10^{8} \text{ cm}^{2}/\text{s}$ として $\sqrt{Dt} \sim 120 \, \mu \text{m}$ となり, 粒径とほぼ等しい値が得られるので, 吸収された水素量は各圧力下での化学平衡値にほぼ等しいと考えられる.

4. おわりに

より高密度の水素ハイドレートの構造中で小さな空隙 を占有する水素分子の場合にも、その拡散定数が水素ク ラスレートハイドレートと同様に大きな値であること が、ダイヤモンドアンビルセルを使った高分解能 NMR の結果から示されている(Okuchi et al., 2007a; Okuchi, 2012). つまり水素分子の速い固体内拡散は第 2 図 の全ての構造に共通の現象であり、もしこれらの高密度 の構造をより低圧で安定化する方法があれば、その構造 を新たな媒体とした、効率的な水素の吸収・貯蔵・放出 が可能になる. 今後の展開として、このようなクラス レートハイドレート以外のハイドレート構造への水素貯 蔵の可能性を調べることは重要であろう.

謝辞

本研究は公益信託 ENEOS 水素基金および科学研究 費補助金(No.23340161)の支援を受けて行われた.

参考文献

- Florusse, L. J., Peters, C. J., Schoonman, J., Hester, K. C., Koh, C. A., Dec, S. F., Marsh, K. N., and Sloan, E. D. (2004) Stable low-pressure hydrogen clusters in a binary clathrate hydrate. *Science*. **306**, 469–471.
- Hirai, H., Kagawa, S., Tanaka, T., Matsuoka, T., Yagi, T., Ohishi, Y., Nakano, S., Yamamoto, Y., Irifune, T (2012) Structural changes of filled ice Ic hydrogen hydrate under low temperatures and high pressures from 5 to 50 GPa. J. Chem. Phys. **137**, 074505.
- Lee, H., Lee, J. W., Kim, D. Y., Park, J., Seo, Y. T., Zeng, H., Moudrakovski, I. L., Ratcliffe, C. I., and Ripmeester,

J. (2005) Tuning clathrate hydrates for hydrogen storage. *Nature*. **434**, 743-746.

- Lokshin, K. A., Zhao, Y., He, D., Mao, W. L., Mao, H. K., Hemley, R. J., Lobanov, M. V., and Greenblatt, M (2004) Structure and dynamics of hydrogen molecules in the novel clathrate hydrate by high pressure neutron diffraction. *Phys. Rev. Lett.* **93**, 125503.
- Lu, H., Wang, J., Liu, C., Ratcliffe, C. I., Becker, U., Kumar, R., and Ripmeester, J. (2012) Multiple H₂ occupancy of cages of clathrate hydrate under mild conditions. J. Am. Chem. Soc. 134, 9160–9162.
- Mao, W. L., H. K. Mao, A. F. Goncharov, V. V. Struzhkin, Q. Guo, J. Hu, J. Shu, R. J. Hemley, M. Somayazulu and Y. Zhao (2002) Hydrogen clusters in clathrate hydrate. *Science*, 297, 2247–2249.
- Okuchi, T. (2012) Collision and diffusion dynamics of dense molecular hydrogen by diamond anvil cell nuclear magnetic resonance, *J. Phys. Chem. C*, **116**, 2179–2182.
- Okuchi, T., Takigawa, M., Shu, J., Mao, H. K., Hemley, R. J., and Yagi, T. (2007a) Fast molecular transport in hydrogen hydrates by high-pressure diamond anvil cell NMR. *Phys. Rev. B.* 75, 144104.
- Okuchi, T., Moudrakovski, I. L., and Ripmeester, J. A. (2007b) Efficient storage of hydrogen fuel into leaky cages of clathrate hydrate, *Appl. Phys. Lett.*, **91**, 171903.
- 奥地拓生(2007) 水素ハイドレートの惑星科学. 遊星人(日本惑星科学会誌), 16, 24-31.
- 奥地拓生(2009)水素ハイドレートの速い水素分子拡散.高 圧力の科学と技術,3,210-216.
- 佐々木重雄・奥地拓生・久米徹二・清水宏晏(2011)高圧力 下におけるメタンハイドレートの単結晶成長.日本結晶成 長学会誌,38,45-54.
- Sugahara, T., Haag, J. C., Prasad, P. S. R., Warntjes, A. A., Sloan, E. D., Sum, A. K., and Koh, C. A. (2009) Increasing hydrogen storage capacity using tetrahydrofuran. *J. Am. Chem. Soc.* 131, 14616–14617.
- Vos, W. L., Finger, L. W., Hemley, R. J., and Mao, H. K (1993) Novel H₂-H₂O clathrates at high pressures. *Phys, Rev. Lett.* **71**, 3150-3153.
- Zhang, J., Kuo, J.-L., Iitaka, T. (2012) First principles molecular dynamics study of filled ice hydrogen hydrate. *J. Chem. Phys.* 137, 084505.
ラジカル観察から明らかとなった ガスハイドレートの特徴

谷 篤史¹⁾, 菅原 武²⁾, 大島 基¹⁾, 竹家 啓³⁾, 大垣 一成²⁾

2012年12月23日受付, 2013年1月16日受理

γ線照射によりガスハイドレートに生成するラジカル種を観察した.飽和炭化水素ハイドレートに 生成するアルキルラジカルは、77 K のような低温域で安定に包接されることがわかった.温度をあ げていくと、アルキルラジカルを介した水素原子移動反応(隣接するケージに包接されたゲスト分子 からアルキルラジカルが水素原子を引き抜く反応)が見られた.さらに温度をあげると、ラジカル反 応によるアルキルラジカルの減少が観察された.ラジカル種をプローブとしてガスハイドレートの特 徴を探ると、低温域では、ガスハイドレートはラジカル種を包接する「ゆりかご」の役割を果たし、 高温域では、ゲスト分子間で相互作用することが明らかとなった.

Characteristics of gas hydrates through observation of radical species

Atsushi Tani¹, Takeshi Sugahara², Motoi Oshima¹, Kei Takeya³, Kazunari Ohgaki²

Radical species induced by gamma-ray irradiation in gas hydrates have been investigated by electron spin resonance (ESR). In case of alkane hydrates (methane, ethane, propane and isobutane hydrates), alkyl radicals derived from guest molecules show different behaviors in three temperature ranges. At relatively lower temperature like 77 K, the radicals are stably stored in the hydrates. A water cage plays a role of a cradle to keep an unstable radical. In middle temperature range around 200 K, hydrogen abstraction reactions occur in the hydrates. A radical picks up hydrogen atom from a guest molecule in an adjacent cage. At higher temperature like more than thermodynamically equilibrium temperature at atmospheric pressure, number of the radicals decrease through the radical reactions. These studies reveal that interaction between guest molecules occurs through radical species in gas hydrates.

1. はじめに

クラスレートハイドレート(ガスハイドレート)は, 水分子でできた籠(ケージ)にゲスト分子が包接された 化合物で,一般に低温・高圧力条件において安定な物質 である.メタンやエタンといった炭化水素だけでなく, 窒素や二酸化炭素,硫化水素,キセノンなどがゲスト分 子となり,その結晶構造や状態図に関する研究が行われ てきた(詳細は Sloan and Koh, 2008 などを参照).メ

- 1) 大阪大学大学院理学研究科
- 2) 大阪大学大学院基礎工学研究科
- 3) 名古屋大学大学院工学研究科
- ¹ Graduate School of Science, Osaka University, Toyonaka, Japan
- ² Graduate School of Engineering Science, Osaka University, Toyonaka, Japan
- ³ Graduate School of Engineering, Nagoya University, Nagoya, Japan
- e-mail: atani@ess.sci.osaka-u.ac.jp

タンハイドレートを例とすると,親水性の水分子ででき たケージに疎水性のメタン分子が包接されている.これ がガスハイドレートの大きな特徴の一つである.

包接化合物を利用すれば、ラジカル種や不安定な分子 をケージに包接することができ、より高温まで安定化で きるのではないか (Peiser, 1960; Rice, 1962). そのよう な興味から、ガスハイドレートにおける光照射や放射線 照射により生成するラジカル種の研究は始まっている. Goldberg (1963, 1964) は、イオウを含むH₂Sや CH₃SH, C₂H₅SH をゲスト分子とするガスハイドレー トに紫外線照射する研究を行い、ラジカル種をはじめと する活性種がガスハイドレートにおいて比較的安定(活 性種は-20℃で徐々に減少するが、40分後でも観測で きる)に保存されることを示した.一方, Bednarek et al. (1996) らは、水酸化テトラメチルアンモニウム (TMAOH) を包接するセミクラスレートハイドレート にX線照射する研究を行い,生成するラジカル種は 150 K でも減少することを報告した.これらの実験は、 ラジカル種によってガスハイドレートに安定に保持され るものと保持されないものがあることを示している.

メタンやエタンなど飽和炭化水素から生成するアルキ ルラジカル (例えば、メチルラジカルやエチルラジカル など)は水分子と反応せず、ケージ内に安定に包接され ると予想される.そこで,私たちは炭化水素を中心とし たガスハイドレートを対象に,γ線照射により生成する ラジカル種の研究を行ってきた. 例えば、メタンハイド レートに関する研究(Takeya et al., 2004, 2005) には じまり, エタン (Takeya et al., 2007a), エチレン (Takeya et al., 2007b), プロパン (Ohgaki et al., 2008), イソブタン (Kobayashi et al., 2012), SF₆ (Takato et al., 2011), キセノン (Takeya et al., 2011) などである.また,韓国のグループは,水素ハイドレー トやセミクラスレートハイドレートにおける水素原子 (Yeon et al., 2008; Koh et al., 2012) や, セミクラス レートハイドレートに包接されたスーパーオキシドアニ オンラジカル (Cha, et al., 2010) について報告してい 3.

ところで,ガスハイドレートではゲスト分子は水分子 でできたケージを構成する五角面や六角面などにより 「隔離」されているが,ゲスト分子間での相互作用はな いのだろうか.本稿では,アルキルラジカルが隣接する ケージに包接されたゲスト分子から水素を引き抜く「水 素原子移動反応」や,水素原子移動反応に伴って起こる 「ラジカル種の二量化反応」といった,ラジカル種の観 察から見えてきたガスハイドレートの特徴について紹介 する.

2. 実験方法

ガスハイドレート試料は,高圧容器にて所定の温度圧 力条件により水とガスから合成し, -20° Cの冷凍室にて 試料を取り出した.ゲスト分子として用いた気体はメタ ン,エタン,プロパン,イソブタンの4種類で,それに 加え SF₆やメタンとプロパンの混合ガスハイドレート も準備した.また,ホスト分子には,軽水だけでなく, 重水も用いた(以下,重水を使用した場合は明示する). これをプラスチック製の容器にいれ,液体窒素に浸した 状態(77 K)で γ 線を照射し,電子スピン共鳴 (ESR)法により計測した.計測温度はESR温度可変 装置を利用して設定した.また,反応生成物について は,気体の赤外線吸収分光,および質量分析計により評 価した.実験条件の詳細については,それぞれの論文を 参照していただきたい.

3. 結果と考察

3.1 水素原子(重水素原子)

すべての試料を120Kで観察すると、水素原子(水

素ラジカルともいう)の存在が確認された.重水をホス トとした場合は,重水素原子(D・)のほか,水素原子 (H・)も確認され, γ 線はゲスト分子とホスト分子の両 方を解離していることがよくわかる.水素原子のESR スペクトルをよく見ると,メインピークの両脇に小さな 信号がある(Fig.1).これらは,水素原子がガスハイ ドレートの水素(ゲストかホストかは問わない)と相互 作用することによる「スピンフリップライン」によるも のと考えられる(Miyazaki et al., 1990; Takeya et al., 2011).なお,水分子から生成するOH・(もしくは OD・)は77Kでも観測されず,ゲスト分子と次のよう に反応して消滅しているものと考えられる(Rはアルキ ル基).

$OH \cdot + RH \rightarrow H_2O + R \cdot$

これら水素原子や重水素原子は温度上昇とともに減少 し、200 K を超える温度では、アルキルラジカルしか観 測されなかった.よって、以下の議論ではアルキルラジ カルのみがラジカル種としてガスハイドレートに包接さ れているとし、話を進める.

3.2 ラジカルを介したゲスト分子間での水素原子移動 反応

プロパンハイドレートでは、2種類のアルキルラジカ ル種(ノルマルプロピルラジカル(*n*-propyl)とイソプ ロピルラジカル(isopropyl))が120Kで観察された (Ohgaki et al., 2008).240~265Kにおいてラジカル種 の観察を続けると、*n*-propylの量が減少し、isopropyl の量が増加した(Fig.2).ラジカル総量に変化がな かったことから、プロパンハイドレート内部で水素原子 移動による反応が起こっていることが明らかとなった. 水素原子の移動には、分子内水素移動、分子間水素移



図1:γ線照射後のメタンハイドレートにおけ る水素原子のESR スペクトル.77 K での測定. メインピーク(★)の両脇にサテライトピーク (▼)が見られる.

Fig. 1: ESR spectrum of atomic hydrogen at 77 K in methane hydrate after gamma-irradiation.



図2: γ 線照射後のプロパンハイドレートにおける 2種類のプロピルラジカル量とその総量の変化 (Ohgaki et al., 2008). 260 K での結果. ●はノル マルプロピルラジカル, ○はイソプロピルラジカ ル, △はプロピルラジカルの総量を示す.

Fig. 2: Representative results of isothermal annealing experiments at 260 K in propane hydrate after gamma-irradiation. \bullet stands for *n*-propyl radicals, \bigcirc for isopropyl radicals, and \triangle for total number of propyl radicals. Reproduced from Ohgaki et al. (2008).

動,およびホスト分子である水分子を介した水素移動の 3つの可能性が考えられる.そのメカニズムの解明に迫 るため,プロパンとSF₆(ともに構造II型の大ケージを 占有する)を1:1で混合したガスハイドレートを準備 した.分子間で水素原子が移動するためには,プロパン 分子が数珠つなぎになる必要があり,この混合ハイド レートでは分子間での水素移動は起こりにくくなる.一 方,分子内での水素原子移動やホスト分子を介した水素 原子移動は,この混合ハイドレートでも同様に起こるは ずだと考えた.

実験の結果,混合ハイドレートでは*n*-propylは 250 K でもほとんど減少せず,isopropyl へ変化する速 度がかなり遅くなることがわかった.このことから,水 素原子は分子間で移動していることが明らかとなった. つまり,ラジカル種(*n*-propyl)とゲスト分子(プロパ ン)の間で水素原子移動反応(水素引抜き反応)が起こ り,プロパンの β -H の移動により,isopropyl へ変化す ることが分かった(Fig. 3a).

一方, α -H が移動する場合,反応前後でラジカル種 の種類も量も変化しないことから ESR では観測するこ とができないが, β -H のみが移動するとは考えにくい. よって,プロパンハイドレートにおける *n*-propyl を介 した水素原子移動反応では,プロパンの α -H 移動によ り*n*-propyl が見かけ上ハイドレート内を伝搬し, β -H 移動により isopropyl へ転換,水素移動反応が終了する という2つの反応が起こっていると考えられる.

同様の結果はイソブタンハイドレート(重水)でも観



図3:水素原子移動反応のモデル(Kobayashi et al., 2012). (a)プロパンハイドレート,(b)イソブタンハイドレート. α -H が移動すると,引き続き水素原子移動反応が起こり,ハイド レート内部でアルキルラジカルが拡散する. β -H が移動す ると,イソプロピルラジカルや tert-ブチルラジカルが生成 し,水素原子移動反応は終わる.

Fig. 3 : Intermolecular hydrogen-picking models in (a) propane hydrate and (b) isobutane hydrate. Reproduced from Kobayashi et al. (2012).

察された(Kobayashi et al., 2012). イソブタンハイド レートでは、イソブチルラジカル(isobutyl)と tert-ブチルラジカル(tert-butyl)の2種類のアルキルラジ カルが120 K で観察された. プロパンハイドレートと 同様に、ラジカル種(isobutyl)とゲスト分子(イソブ タン)の間で水素原子移動が起こり、イソブタンの β -H が移動した場合、isobutyl が減少し、隣接するケー ジに包接されたイソブタンが tert-butyl へ変化すること が分かった(Fig. 3b).また、長時間反応させると tertbutyl のみの ESR スペクトルを示すことから、水素原 子移動反応は不可逆な反応であることがわかる.

これら2つの系では、プロパンやイソブタンは構造II 型の大ケージ(5¹²6⁴の16面体)に包接される.この大 ケージは4つの六角面を共有して連なっていることか ら、プロパンやイソブタンで見られる水素原子移動は六 角面を通じて行われている.六角面より小さい五角面を 通じても同様の分子間水素移動反応は起こるのか.それ を調べるため、メタン-プロパン混合ハイドレート(重 水)を用いて研究を行った(Sugahara et al., 2012).ガ スの混合比を調整することで、プロパンが大ケージに、 メタンが小ケージ(5¹²の12面体)に包接されるハイド レートを準備した.この場合、プロパンとメタンは五角 面を共有し隣接している.

この系では、2 種類のプロピルラジカルのほか、メチ ルラジカルの生成を120 K で確認した.メチルラジカ ルの ESR スペクトルは2 種類のプロピルラジカルのス ペクトルに完全に重なるため、その定量評価は難しかっ た.そこで、2 種類のプロピルラジカルとその総量を評 価したところ, Fig. 4 のようになった. 240 K では観測 開始から 150 分くらいまでプロピルラジカルの総量が増 加し,その後一定となった.それにあわせて, isopropyl の増加は 150 分を境に緩やかとなっている. 純 粋なプロパンハイドレートの場合と比べると, 150 分後 以降の ESR スペクトルは 2 種類のプロピルラジカルの みのものであることがわかった.このことから, 150 分 以降では純粋プロパンハイドレートで見られた *n*propyl とプロパン間の水素原子移動が起こっているが, 150 分まではメチルラジカルの減少も同時に起こり,プ ロピルラジカルの総量が増加したと考えられる.このこ とは,五角面を通じてメチルラジカルとプロパン分子間 で水素原子移動による反応が起こることを示している.

ホスト分子の違い(軽水と重水)により水素原子移動 反応の反応速度はどの程度変化するのだろうか.240~ 265 K の各温度における *n*-propyl と isobutyl のラジカ ル量の減少速度(1次反応で減少する)を求め,アレニ ウスプロット(Fig. 5)に示した(Kobayashi et al., 2012). 黒色で示した *n*-propyl ラジカルの減少速度に は,軽水と重水による明瞭な差異はみられず,活性化エ ネルギーも軽水で 34 ± 3 kJ/mol,重水で 39 ± 5 kJ/mol となり,誤差内で同じとなった.また, isobutyl の減少 速度は *n*-propyl に比べて遅くなるが,活性化エネル ギーは 35 ± 3 kJ/mol と大きな差はなく,こちらも誤差 内で一致しているといってよい結果となった.このこと



図4:メタン+プロパン混合ハイドレート(重水)での 240 K における2種類のプロピルラジカル量とその総量 の変化(Sugahara et al., 2012).●はノルマルプロピル ラジカル,△はイソプロピルラジカル,□はプロピルラ ジカルの総量を示す.

Fig. 4 : Representative results of isothermal annealing experiments at 240 K in methane + propane mixed hydrate with D_2O after gamma-irradiation. • stands for *n*-propyl radicals, \triangle for isopropyl radicals, and \Box for total number of propyl radicals. Reprinted with permission from Sugahara et al. (2012). Copyright (2012) American Chemical Society.

は,アルキルラジカルとゲスト分子がケージの六角面を 通じて相互作用する際のエネルギー障壁が,水素原子移 動反応の起こりやすさを決める主要な要因となっている のであろうと考えられる.

それでは、水素原子移動反応はどのようなモデルなの か.予察的ではあるが、現状で考えているモデルを紹介 する.120 K のような低温では、アルキルラジカルや水 分子の運動は穏やかで、アルキルラジカルを含むゲスト 分子はケージに安定に捕獲されていると考えられる.温 度上昇とともに、分子の運動は活発になり、またケージ を構成する水分子間距離の変動も大きくなることが予想 される.このとき、ラジカル種と隣接するケージのゲス ト分子との距離が水素原子移動反応を起こせる距離に近 づく確率が増え、反応が進むのではないかと考えてい る.

ガスハイドレート内部でのラジカル種の変化を追う一 連の実験は、隣接するケージに捕獲されているゲスト分 子間で明らかに相互作用している様子を明らかにした. 3.3 水素原子移動の後に見られるラジカル反応

メタンハイドレートでは, メタンから生成するメチル

ラジカルが主なラジカル種として観測された(Takeya et al., 2004). その熱安定性を種々の圧力下で調べたと ころ,メタンハイドレートが十分に安定な温度圧力条件 (例えば10 MPa, 200K)でもメチルラジカルは2次反 応により減少することが明らかとなった(Tani et al., 2006, 2011; Ishikawa et al., 2007).また,メチルラジカ ルの減少速度を160~220 Kの各温度で計測しアレニウ



図5:水素原子移動によるラジカル減少速度のアレニウスプ ロット(Kobayashi et al., 2012). ■はプロパンハイドレー ト(軽水),□はプロパンハイドレート(重水),○はイソブ タンハイドレート(重水)の結果を示す.

Fig. 5: Arrhenius plots of decreasing rates for *n*-propyl radicals in propane hydrates with $H_2O(\blacksquare)$ and $D_2O(\Box)$, and isobutyl radicals in isobutane hydrate with $D_2O(\bigcirc)$ after gamma-irradiation. Reproduced from Kobayashi et al. (2012).

スプロットに示すと, 圧力によらず減少速度は同じ, 活 性化エネルギーも同じ (21±1 kJ/mol) であることが わかった (Fig. 6).また, y 線照射済みのメタンハイド レート分解後の気体を赤外分光で分析したところ, エタ ンの生成が確認できた.メチルラジカルが減少している 温度域では, それ以外のラジカル種は観測されないこと も考慮すると, メチルラジカルは3.2節で紹介した水素 原子移動反応により見かけ上メタンハイドレート内部を 拡散し, 2つのメチルラジカルが合一する二量化反応に よりエタンとなることで減少していると考えられる.

さらに、メチルラジカルの熱安定を高温域まで詳細に 評価(Fig.7)したところ、活性化エネルギーは235 K 以下では20.0±1.6 kJ/mol,235~270 K では54.8± 5.7 kJ/molと温度で変わることがわかった(Takeya et al.,2005).この活性化エネルギーは、低温域ではメ タンハイドレートが氷とメタンガス分解する分解エンタ ルピー(18.13~23.37 kJ/mol)と、高温域では水とガス に分解する分解エンタルピー(54.19~67.85 kJ/mol) とよく似た値を示した(De Roo et al.,1983; Frost and Deaton,1946; Handa,1986).高温域といえども氷点以 下であるため、液体の水が存在するかは定かではない が、少なくともメチルラジカルの二量化反応は片方のメ チルラジカルがケージを抜け出す必要があることから、 ホスト側の水素結合が235 K 付近で何らかの変化をし ている可能性が伺える.

包接されたラジカル種の減少を追う一連の実験は, ラ ジカル種がケージから抜け出し, ラジカル同士の合一反 応がガスハイドレートにおいて起こっていることを示唆



図6:γ線照射後にメタンハイドレートに観察されるメチル ラジカルの種々の圧力下における減少速度のアレニウスプ ロット(Ishikawa et al., 2007).メチルラジカルは,圧力に よらず同じ速度で減少していることがわかる.

Fig. 6: Arrhenius plots of decreasing rates for methyl radicals in gamma-irradiated methane hydrate under different pressures. Reproduced from Ishikawa et al. (2007). Copyright (2007) The Japan Society of Applied Physics.

している.

4. まとめ

飽和炭化水素ハイドレートにおいて放射線照射により 生成するアルキルラジカルの観察を行うことで明らかと なった、アルキルラジカルを介したゲスト分子間での水 素原子移動反応やアルキルラジカルの合一反応について 紹介した.アルキルラジカルの種類により温度は異なる が,結果を3つの温度域でまとめると次のようになる. 低温域では、アルキルラジカルはケージに包接されるこ とで安定化される.中温域では、アルキルラジカルは隣 接したケージのゲスト分子と相互作用をはじめ、水素原 子移動反応によりアルキルラジカルは見かけ上拡散、も しくは変化する.高温域では、アルキルラジカルはケー ジを抜け出し、ラジカルの合一反応により減少する.こ のことは、温度域によりゲスト分子間で相互作用しうる ことを示している.今後もガスハイドレート特有の面白 さを追求していきたいと考えている.

謝辞

本研究は多くの学生との共同研究の結果である.また,研究室のスタッフや学生からの有意義な議論をいただいた.γ線照射では大阪大学産業科学研究所の池田氏と山本氏に,高圧力 ESR 計測では守時氏にご協力いただいた.ここに感謝する.なお,本研究は主に JSPS 科研費 21686084,21246117の助成を受けたものです.



図7:γ線照射後にメタンハイドレートに観察されるメチ ルラジカルの減少速度のアレニウスプロット(Takeya et al., 2005).メチルラジカルが減少する活性化エネルギー は、230~235 K を境に変化することがわかる.

Fig. 7 : Arrhenius plots of the decreasing rates for methyl radicals in gamma-irradiated methane hydrate at $210 \sim 260$ K Reprinted with permission from Takeya et al. (2005). Copyright (2005) American Chemical Society.

参考文献

- Bednarek, J., A. Lund, and S. Schlick (1996) Unstable intermediates in X-irradiated clathrate hydrates: ESR and ENDOR of tetramethylammonium hydroxide pentahydrate (TMNOH). J. Phys. Chem., 100, 3910–3916.
- Cha, M., K. Shin, M. Kwon, D.-Y. Koh, B. Sung, and H. Lee (2010) Superoxide ions entrapped in water cages of ionic clathrate hydrates. *J. Am. Chem. Soc.*, **132**, 3694–3696.
- De Roo, J. L., C. J. Peters, R. N. Lichtenthaler, and G. A. M. Diepen (1983) Occurrence of methane hydrate in saturated and unsaturated solutions of sodium chloride and water in dependence of temperature and pressure. *AIChE J.*, 29, 651-657.
- Frost, E. M., Jr., W. M. Deaton (1946) Gas hydrate composition and equilibrium data. *Oil Gas J.*, **45**, 170–178.
- Goldberg, P. (1963) Free radicals and reactive molecules in clathrate cavities. *Science*, **142**, 378–379.
- Goldberg, P. (1964) Stabilization of free radicals and reactive molecules in cavities of the water clathrate lattice. *J. Chem. Phys.*, **40**, 427-432.
- Handa, Y. P. (1986) Compositions, enthalpies of dissociation, and heat capacities in the range 85 to 270 K for clathrate hydrates of methane, ethane, and propane, and enthalpy of dissociation of isobutane hydrate, as determined by a heat-flow calorimeter. *J. Chem. Thermodyn.*, 18, 915–921.
- Ishikawa, K., A. Tani, T. Otsuka, and S. Nakashima (2007) Transformation of γ-ray-formed methyl radicals in methane hydrate at 10 MPa. *Jpn. J. Appl. Phys.*, 46, 455– 460.
- Kobayashi, N., T. Minami, A. Tani, M. Nakagoshi, T. Sugahara, K. Takeya, and K. Ohgaki (2012) Intermolecular hydrogen transfer in isobutane hydrate. *Energies*, 5, 1705–1712.
- Koh, D.-Y., H. Kang, J. Park, W. Shin, and H. Lee (2012) Atomic hydrogen production from semi-clathrate hydrates. J. Am. Chem. Soc., 134, 5560–5562.
- Miyazaki, T., N. Iwata, K. Fueki, and H. Hase (1990) Observation of ESR spin flip satellite lines of trapped hydrogen atoms in solid hydrogen at 4.2 K. J. Phys. Chem., 94, 1702–1705.
- Ohgaki, K., K. Nakatsuji, K. Takeya, A. Tani, and T. Sugahara (2008) Hydrogen transfer from guest molecule to radical in adjacent hydrate-cages. *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **10**, 80–82.

Peiser, H. S. (1960), in Formation and Trapping of Free

Radicals, A. M. Bass and H. P. Broida, Eds. Academic Press, New York, 301.

- Rice, F. O. (1962), in *Free Radicals in Inorganic Chemistry*, Advances in Chemistry Series 36, American Chemical Society, Washington, D.C., 3.
- Sloan E. D., and C. A. Koh (2008) *Clathrate Hydrates of Natural Gases, Third Edition.* CRC Press, New York.
- Sugahara, T., Y. Kobayashi, A. Tani, T. Inoue, and K. Ohgaki (2012) Intermolecular hydrogen transfer between guest species in small and large cages of methane + propane mixed gas hydrates. *J. Phys. Chem. A*, **116**, 2405–2408.
- Takato, K., A. Tani, T. Sugahara, K. Takeya, and K. Ohgaki (2011) Decay mechanisms of radiation-induced radicals in sulfur hexafluoride clathrate hydrate. Physics and Chemistry of Ice 2010, Hokkaido University Press, Sapporo, 261–266.
- Takeya, K., A. Tani, T. Yada, M. Ikeya, and K. Ohgaki (2004) Electron spin resonance study on γ -ray-induced methyl radicals in methane hydrates. *Jpn. J. Appl. Phys.*, **43**, 353–357.
- Takeya, K., K. Nango, T. Sugahara, K. Ohgaki, and A. Tani (2005) Activation energy of methyl radical decay in methane hydrate. J. Phys. Chem. B, 109, 21086–21088.
- Takeya, K., K. Nango, T. Sugahara, K. Ohgaki, A. Tani, H. Ito, M. Okada, and T. Kasai (2007a) Electron spin resonance study on γ -ray-induced ethyl radical in ethane hydrate. *Jpn. J. Appl. Phys.*, **46**, 3066–3070.
- Takeya, K., T. Sugahara, K. Ohgaki, and A. Tani (2007b) Electron spin resonance study on γ -ray-induced radical species in ethylene hydrate. *Radiat. Meas.*, **42**, 1301–1306.
- Takeya, K., A. Tani, T. Sugahara, and K. Ohgaki (2011) Thermal stability of radicals induced in xenon hydrate. Physics and Chemistry of Ice 2010, Hokkaido University Press, Sapporo, 267-271.
- Tani, A., K. Ishikawa, and K. Takeya (2006) Thermal stability of methyl radical in γ -ray irradiated methane hydrate under different pressure from 0.003 to 1 MPa. *Radiat. Meas.*, **41**, 1040–1044.
- Tani, A., K. Takato, T. Sugahara, K. Ohgaki, and K. Takeya (2011) *In-situ* ESR observation of methyl radical in gamma-irradiated methane hydrate under high pressure. Physics and Chemistry of Ice 2010, Hokkaido University Press, Sapporo, 273–276.
- Yeon, S.-H., J. Seol, Y. Park, D.-Y. Koh, Y. S. Kang, and H. Lee (2008) Spectroscopic observation of atomic hydrogen radicals entrapped in icy hydrogen hydrate. *J. Am. Chem. Soc.*, **130**, 9208–9209.

■紀要「低温科学」の変遷 –

- •低温科學, 第1輯 (1944年)-第10輯 (1953年)
- •低温科學. 生物篇, 第11輯 (1954年)-第35輯 (1978年)
- •低温科学.物理篇,第11輯(1953年)-第53輯(1995年)
- ・低温科学。物理篇。資料集,第27輯(1970年)-第63輯(2005年)
- (このうち,第1輯(1944年12月)~第3輯(1950年12月)は岩波書店発行,第4輯(1948年10

月)は北方出版社発行,第5輯(1950年12月)以降は低温科学研究所発行)

・低温科学。第64巻(2005年)~

※第 68 巻 (2009 年) Supplement Issue (英文增刊号発行)

■著作権 -

- ・本紀要に掲載された論文の著作権は、北海道大学低温科学研究所に属する.
- ・ただし、原著者が出典を明示して再利用することは妨げない。
- ・また,掲載論文の一部または全部を電子的に蓄積し,北海道大学低温科学研究所が行う情報提供 サービスにより公開することがある。

	2013年3月31日
発 行 者	北海道大学 低温科学研究所 〒060-0819 札幌市北区北 19 条西 8 丁目 URL∶http://www.lowtem.hokudai.ac.jp
編集者	佐崎 元, 内田 努, 古川義純
印刷・製本	(株)アイワード

© 2013 Institute of Low Temperature Science, Hokkaido University

