

## 1 序論

身の回りにある物質は、測定周波数やその物質の特性や状態などによって誘電率は大きく変わってくる。その変化を解析し、計算処理をすることによってその物質の内部構造の特徴や変化の程度を、測定物質を壊さずに理解することができる。

そのような手法を誘電スペクトロスコピーまたは、誘電分光があげられる。電磁場と物質の相互作用を調べる分光法の一つである<sup>1</sup>。物質に交流電場をかけることで、周波数特性を観察し、解析する。その時の物質の電気分極の動態を調べる。誘電スペクトロスコピーでは永久双極子を持つ分子などが配向することによる配向分極や不均質物質構造に起因する界面分極などによる誘電緩和現象が見られる。現在の研究では、高分子溶液、コロイド、細胞、生体などについて幅広い研究が行われている<sup>1,2</sup>。

具体的な先行研究として、メダカの卵の成長過程<sup>2</sup>やイースト菌による発酵過程をリアルタイム<sup>2</sup>で観察できることが挙げられる。

しかし、生体における誘電率測定は、電極分極の影響が大きいため、正確な測定が難しく研究があまり進んでいない。そのため、セルの作成や電極の検討を行い、電極分極を改善することで、更なる誘電率による生体の解析や測定を期待することができる。

そこで、本研究では、いくつかの電極を用いて生体における誘電率測定に適した電極は何かの検討、また、生体における誘電率測定として赤血球の誘電率測定を行った、

## 2 測定方法

### 2.1 測定機器

本研究では、インピーダンスアナライザを用いて誘電率測定を行った。測定手法は、自動平衡ブリッジ法を用いている。自動平衡ブリッジ法は、100MHZ 前後までの測定が可能であり、用いられたキーサイトの E4990A では、

20Hz~120MHZ までの測定が可能である。抵抗においては数 10mΩ ~ 数 10MΩ の範囲をカバーしている。図 2.1 に自動平衡ブリッジ回路の回路を示す。

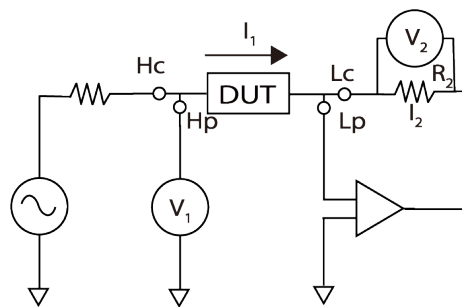


図 2.1 自動ブリッジ平衡回路

R2 の値は既知であるから、DUT のインピーダンスを  $z$  とすると、計算式は以下ようになる。

$$V_2 = I_2 R_2 \quad (2.1)$$

$$z = \frac{V_1}{I_2} = \frac{V_1 R_2}{V_2} \quad (2.2)$$

また、このような構成法を 4 端子対法と呼ぶ。それぞれの端子の役割は、Hc は電圧出力、Hp は電圧測定、Lp は仮想接地、Lc は電流測定の役割を果たす。

### 2.2 測定セルの寸法

インピーダンスアナライザの測定にはその試料の状態や形状に合わせた容器であるセルを用意する必要がある。生体物質のように生体物質のように電極をもたず血液や細胞のような液体と混濁した状態の試料に対しては、電極構造と試料を保持するための測定セルを用意する必要がある。本研究では、平衡平板型のセルを作成し、実験を行った。寸法は、寸法は、縦 14mm×横 30mm 板厚 6.0mm であり、側面と上部から穴をあけてあり、側面の穴は、直径 5mm である。その側面の穴に対して電極を取り付ける。金属の電極に対しては、セメダインを使用して、繊維素材の電極には防水性の高い詰めいなゴム製の電極を使用した。そのセルを図 3.2 に示す。

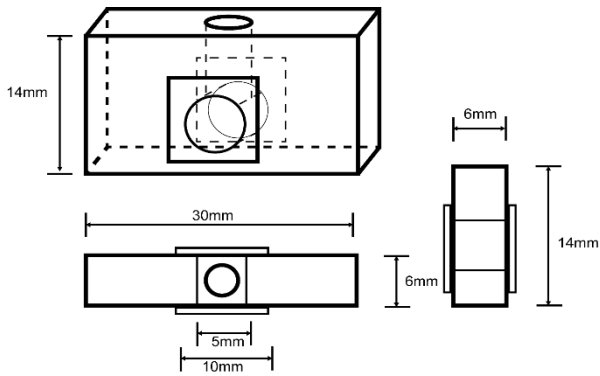


図 3.2 自作セル

### 2.3 測定セルの校正

前項で作成したセルに試料を入れて測定した。しかし、その測定されるインピーダンスは誘電率・導電率の電気的性質とセルの物理的形状の両方を表したものとなる。同じ物質でもセルの寸法が異なってくるとインピーダンスの値が異なってくる。そのため、異なる条件や環境で測定した結果、比較するのが難しくなる。そのため、セルの校正が必要になる。

電極の周囲の浮遊容量 $C_r$ を考慮すると、 $C_p$

$$C_p = \varepsilon' C_o + C_r \quad (3.3)$$

と表すことができるがこの値は直接求めることができない。 $C_o$ と $C_r$ を校正によって決定する。校正には、あらかじめ既知の誘電率を二つ用いる。本研究では空気( $\varepsilon' = 1$ )と水( $\varepsilon' = 78.3$ )を用いた。

## 3 実験

### 3.1 NaCl 水溶液の誘電率測定

電極の検討を行うために、数種類の電極を用意して、NaCl 水溶液の濃度を変更し、誘電率、導電率を測定した。測定した値を比較することで生体における誘電率測定は、どの電極が適しているかを検討した。NaCl 水溶液の濃度は、0.1%~0.9%の濃度を 0.2%づつ、変更して測定した。使用した電極は、銀、塩化銀、白金、白金黒メッキとカーボンファブリックとそれを二枚重ねにした計6のパターンで測定した。電極面積を軽減する方法として、電極の表面積を大きくすることがある。そのため、カーボンファブリックは表面積が大きい繊維素材で、分極の効果を下げる可能性がある。また、カーボンファブリックには導電性を上昇させるために高分子 PEDOT を修飾させている。

図 4.1 に文献の NaCl 水溶液の導電率と比較した図を示

す。文献の値と近い値を示したのは、銀の電極の値であった。ほかの電極での測定は、文献の値よりも下回る形で測定された。抵抗率が不純物などによって高くなったためであると考えられる。

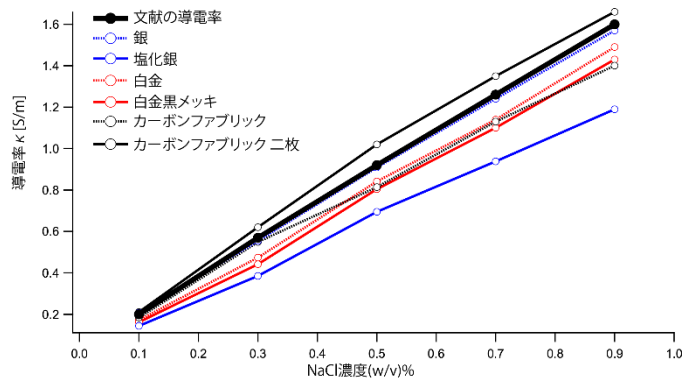


図 4.1 に NaCl 濃度 0.3%時における誘電率の周波数依存性の図を示す。まず、銀と白金に対して塩化銀、白金黒メッキとメッキ加工することによって低周波側に誘電率が下がることが分かった。これは、どちらもメッキ加工することによって、表面積が大きくなったためである。また、カーボンファブリックが一枚の時ほどの電極よりも低い誘電率を測定することができた。

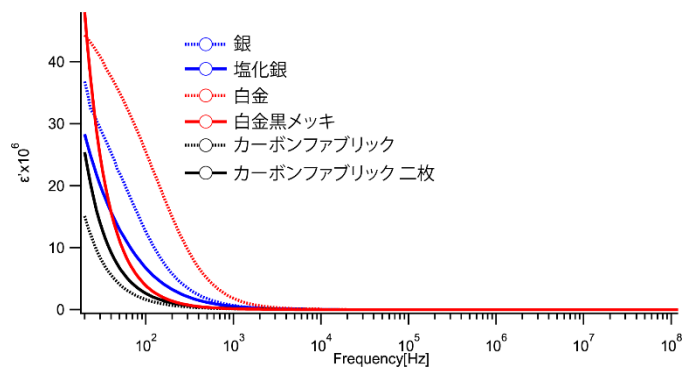


図 4.1 NaCl 濃度 0.3%時における各電極の誘電率の周波数依存性

### 3.2 赤血球の誘電率測定

生体における誘電率測定の初段階として、比較的構造の簡単な赤血球の誘電率測定を行った。使用した赤血球は、ウサギの赤血球である。実験は、赤血球をリン酸緩衝液 (PBS) で希釈して、それぞれの誘電率を測定した。赤血球と PBS の割合は、赤血球 : PBS、1 : 4、1 : 2、1 : 3、1 : 1 の割合で希釈した。図 4.2 に赤血球希釈液の誘電率を示す。濃度が濃ければ濃いほど、誘電率は 1-1kHz の低周波側において高い誘電率を示した。

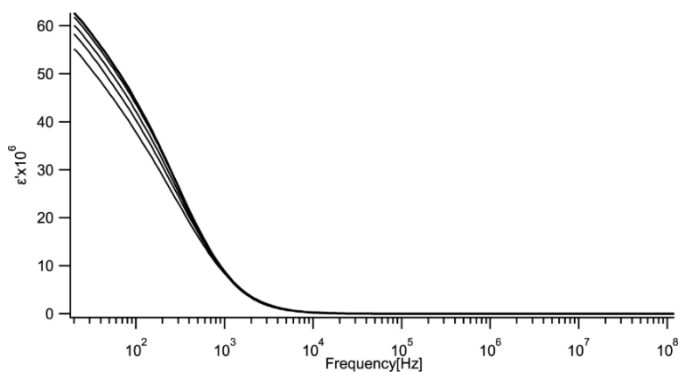


図 4.2 赤血球の誘電率の周波数依存性

次に、NaCl 水溶液と赤血球希釈液の誘電率を比較した図を図 4.3 に示す。NaCl 水溶液の誘電率の波形と赤血球希釈液の誘電率の波形は、明らかに異なる波形を見せる。このころにより、これは、構造の異なる物質の誘電率の測定をすることによって物質の特定が可能であることが分かる。

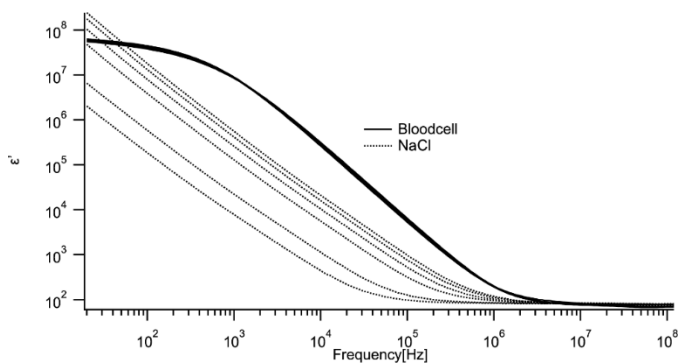


図 3.1 NaCl 水溶液と赤血球の誘電率の周波数依存性

### 3.3 赤血球に対する薬物投与時の誘電率測定

赤血球の薬物に対する動態を調べるために三種類の薬物を投与し、その誘電率の計測を行った。その薬物の決定は、以下の理由で決定した。これは、赤血球が二酸化炭素を取り込んで変化させた重碳酸イオンと塩素イオンを交換するトランスポーターである。これが機能することによって、赤血球内の pH が大きく下がり、ヘモグロビンに酸素の放出を促す。この機構により、代謝が活発な組織に重点的に酸素を供給する。また、このバンド 3 の 3 次元構造が既知の CLC 型塩素イオンチャネルと類似構造をしている。の CLC 型塩素イオンチャネルに着目し、クロライド・トランスポーター阻害薬を投与し、誘電率の測定を試みた。使用したクロライド・トランスポーター阻害薬は AC (9-アントラセンカルボン酸)、SITS (4-アセトアミド-4'-イソチオシアナト-2,2'-スチル

ベンジスルホン酸 二ナトリウム塩 水和物)、DIDS (4,4'-ジイソチオシアナトスチルベン-2,2'-ジスルホン酸 二ナトリウム塩 水和物) の三種類を測定に使用した。実験は、一つの計測に 30 分で行われた。薬物を投与してから、0、5、10、15、20、25、30 分の 5 分ごとの時間経過で誘電率の計測を行った。一つのセルあたりの内容量が約 200 μL であり、それぞれの薬物に対して赤血球 50 μL を注入した。また、どの薬物も 0.01mol/L、0.005mol/L、0.001mol/L で実験を行った。

## 4 考察

### 4.1 セルの作成

本研究では、接着剤の変更により、測定の正確性、再現性が改善された。アロンアルファなどの瞬間接着剤よりもセメダインなどの固まるまでの時間が長時間のものの接着剤の方が良い。瞬間接着剤を使用すると、付着した場所から白い膜が生じる。その膜が、誘電率測定を妨害していたと考えられる。均一な膜ならば、ある一定の誘電緩和が測定できる。しかし、不安定な値が測定されたことからムラのある不完全な膜であることが予想できる。また、そのことから、塩化銀のメッキや白金黒メッキがおおきなムラができることなく加工できていると考察することができる。しかし、さらに正確な誘電率測定を行うためには、できるだけ衛生的な環境で電極及びセルの作成をすることが求められる。これからの実験において、試料の種類や状態に対して様々なセルを作成することが必要である。例えば、セルの電気容量は、 $C = \epsilon_0 \epsilon S/d$  で求められるため、測定試料の性質によってセルの厚さや穴の大きさを変えることで、違った観点で誘電率測定ができる。また、先行研究では、電極の間に膜を挿入できるようなセルを作成し、膜の厚さを算出したりするなどを行っていた。そのようなセルの等に工夫を加えることで、例えば、研究室で飼育中であるカエルの神経細胞等のより複雑な細胞の構造解析が可能になるのではないかと考えられる。

### 4.2 電極の検討

これまでの実験結果より、電極の検討を行う。まず、純

水における誘電率測定においては、銀、白金に対して塩化銀、白金黒メッキとメッキをかけることによって、どちらも 1-1KHz 帯における誘電率が下がった。これは、メッキをかけたことで容量が上がり、電極分極の効果が下げられたためだと考えられる。ここから特にカーボンファブリックに注目して、電極の検討を行っていく。カーボンファブリックは、純水における測定はあまりいい値を測定することはできなかったが、NaCl 水溶液のようなある程度導電性のある溶液中ならば測定出きることが分かった。この点から、生体などの測定においてもそのように溶液を調整してやれば適した計測ができる。また、他の電極と比べて、低い値で誘電率が計測することができる点・加工が容易である点は大きなメリットである。加工が容易である点は、さらに繊維の密度を変えるなど工夫をすることで、分極の効果を減らすことが期待できる。また、柔軟な素材であるため、形状が丸みを帯びたりしている生体にも適している。デメリットとしては、繊維素材なので測定試料によっては再利用ができず、測定のたびに作り直す必要がある点・前述した抵抗率が金属と比べて高い点である。それを差し置いても、メリットの点からカーボンファブリックは生体の誘電率測定電極において十分に有効な素材であると考えられる。

#### 4.3 赤血球の誘電率測定

AC, DIDS, SITS の三種類のクロライド・トランスポーター阻害の役割を持つ薬物を使った。どの薬物も 1-100Hz の間において誘電率の変化を確認することができた。低周波側における誘電率の変化の要因として考えられるのは、浸透圧によるイオンの移動である。前の実験より NaCl の濃度の上昇につれて、誘電率が上昇したことが確認できている。低周波における誘電率の上昇はイオンの上昇、誘電率の減少はイオンの減少であると考えられる。酸性の溶液に赤血球を注入すると、浸透圧によって赤血球内の溶液が流出することで赤血球外のイオン濃度が下がり、誘電率が下がる。これは、DIDS、SITS に確認できた現象である。しかし、AC における実験では上昇した。これは、何も反応せずに、ただ溶液の導電率を下げ、誘電率を上昇させた可能性、または、赤血球が浸透圧により膨らみ赤血球外のイオン濃度をあげるこ

とで、誘電率を上昇させた可能性が考えられる。もし、何も反応がない場合ならば、0-30 の間に誘電率が上昇し続けるとは考えづらい。そのため、0-30 の間にかけて浸透圧によって膨らみ続けたと考える。また、この実験では、クロライド・トランスポーターをターゲットとした実験であった。また、3 種類におけるどの薬物も  $K^+$ ,  $Na^+$ ,  $Ca^{2+}$  チャンネルなどを抑制するマルチチャンネルブロッカーである。その観点から考えると、阻害剤としての役割を果たしておらず、浸透圧変化によるイオン濃度のみの可能性も考えられる。しかし、これらの反応がある特定の赤血球の作用ならば、未特定の薬物の特定などに誘電率測定を用いることのできる可能性がある。

#### 5 今後の課題

この研究は、セルの作成にまだまだ改善の余地がある。セルの寸法の見直しや新たな電極の検討により、様々な生体の誘電率測定が可能になると考えている。また、表面積や測定距離などを定量的にみた解析をして別の角度から考察も必要である。そこから、測定している試料が具体的にどのような性質を持つのかを調べていくことが重要である。また、薬物に赤血球注入した実験では、赤血球と薬物が何かしらの反応をしているというところまでしかわからず、用いた薬物の特性を考慮した考察までは行えていない。

#### 6 参考文献

- 1) 浅見耕司, ライフサイエンスのための誘電スペクトロスコーピー誘電率で細胞を見る (2017)
- 2) 花井哲也, 不均質構造と誘電率 (2000)
- 3) キーサイト・テクノロジー合同会社, ライフサイエンス分野におけるインピーダンス測定の基礎 (2014)
- 4) Schwan, H. P., "Electrical properties of tissues and cell suspensions: Mechanisms and models," Proc. 16th Ann. Int. Conf. IEEE Eng. Med. Biol. Soc., Baltimore, MD, Nov. 1994, pp. A70-A71