誘電的にみた膜状不均質構造の特質

——水中膜, エマルション, マイクロカプセルなどにおける考察——

花 井 哲 也

京都大学化学研究所 〒611 宇治市五ヶ庄

昭和63年6月18日(土) 日本膜学会第10年会 東京理科大学薬学部10号館にて講演

Some Characteristics of Heterogeneous Structure in Membrane Systems as Viewed from Dielectric Behavior

Tetsuya HANAI

Institute for Chemical Research, Kyoto University, Gokashou, Uji, Kyoto 611, Japan

A variety of characteristics of membranous materials are surveyed from a dielectric point of view. In particular, the frequency profiles of the dielectric relaxations are discussed in connection with the inner structure of the membranous materials. The majority of dielectric relaxations observed for membranous materials are attributed to their heterogeneous structure. Dielectric relaxation patterns are compared with one another, being subjected to the theoretical analysis in order to elucidate the inner structure of several examples: underwater polystyrene films, reverse osmotic membranes, bilayer lipid membranes, emulsions, microcapsules, yeast cell suspensions, and lymphoma cells.

The comparison of the feature of dielectric relaxations of these membrane systems leads to the following features: (1) The number of dielectric relaxations is equal to or smaller than that of the kind of interfaces. (2) The dielectric approach is effective for drawing without damage the interior information from living cells. (3) The time-course can readily be observed with respect to the ion migration and the ion leakage across the membranes.

Key words: Bilayer lipid membrane, Biological cell membrane, Dielectric dispersion, Microcapsules, Reverse osmotic membrane.

1. はじめに

誘電的研究という物性研究方法は、広い周波数にわたって対象物質の電気容量 C と、電導的性質すなわちコンダクタンス G とを測定し、その周波数変化(誘電緩和という)のパターンを解析して、その物質の内部構造を推定してゆくという、いわば電波による物質内部透視法のようなものである。この場合、観測される誘電緩和の起因として、物質を構成する分子の双極子の動き具合に

よると考える場合もある。しかし膜現象に関係する場合には、物質の集まり全体として見たときの不均質構造に起因することが多い。したがって、この講では、電氣的立場から物質のいろいろな形式の不均質構造を通覧してみよう。

ここにとりあげる対象は Table 1 にあげたようなものである。膜の状態として平面層状の系は、実例として水中高分子膜、逆浸透膜、水中脂質二分子膜などがある。球状分散系は、膜とは思えないが、ほかの例と比較対照

Table 1 誘電考察の対象となる膜系

膜の状態	形状	実 例
平面状	水中高分子膜 逆浸透膜 水中脂質二分子膜
球 状	エマルション
球形膜	マイクロカプセル 細胞膜
多重球膜	細胞系

すると興味深いのであげておく。実例はエマルション類である。つぎに球形粒子で中空になっていると、球形膜ということになり、マイクロカプセルや生物細胞膜などがその実例となる。さらに被膜球、多重被膜球という構造の例では、いろいろな細胞懸濁系があげられる。

このように、さまざまな構造となって現れる膜系が、誘電挙動としてどのような特徴を示すか、そしてその特徴を解析するとどのような特色の構造知見が得られるかなどを順次述べよう。

2. 誘電現象の意味と読みとり方

2・1 電荷移動によって、なぜ電気容量が増大するか？

Fig. 1-A に示すような平行板コンデンサーで、極板に電荷 Q (図では左に $+4$ と、右に -4 と)を与えたとき、電圧 V が発生する。この真空のときの電気容量は(定義として)

$$C_0 \equiv Q/V = \text{面積 } S \times \epsilon_v / \text{間隔 } d$$

である。つぎに二極板間に電気伝導性のある物質を挿入すると (Fig. 1-B), その物質内の自由に動きうる電荷 $\oplus$, $\ominus$ は電場に押されて動く。そして右方に動いた $\oplus$ 電荷は、Fig. 1-B に見られるように、右極板の $-$ 電荷を打ち消す。その結果として電荷の配置は、Fig. 1-C の

Fig. 1 電荷移動(すなわち分極)によって、なぜ電気容量が増大するか？

ように極板間隔 d_0 が d に減少したかのごとく見える。電気容量 C は間隔 d に反比例するから、 $C/C_0 = d_0/d$ という関係になり、したがって電気容量は C から C に増大する。すなわち、物質内に自由に動くイオンなどの荷電粒子があり、その動く程度に場所的むらがあると、外見上電気容量は大きくなる。したがって電気容量 C に比例する誘電率 ϵ も大きくなる。

2・2 絶縁相と導電相との組み合わせ系に起きる誘電緩和現象

Fig. 2-A に示すように、平行板コンデンサー内に絶縁相(膜相、油相など、添字 f)と導電相(水相など、 w)とが直列層状に詰っている状態を考えよう。直流またはゆっくりと変わる電場、すなわち低周波電場の下では Fig. 2-B のように、導電相の中の自由可動イオン $\oplus$, $\ominus$ が十分に動いて、右極板側 $\oplus$ と左側の相境界面 $\ominus$ とにならぶ。このように電荷がかたよることを分極という。このように分極を起こすと、この系は外部に対して Fig. 2-C のように、極板間隔の狭いコンデンサーとして振舞い、電気容量 C は大きい値 C_i になる。(Fig. 2-E 参照)

つぎに高周波電圧をかけると、非常に速く電場が変わるために、導電相内の自由可動イオン $\oplus$, $\ominus$ は動けなくなる。したがって電荷のかたより(分極)を生じないから、コンデンサーは間隔の広い状態を示すことになり、電気容量は小さい値 C_h になる。(Fig. 2-E 参照)

これらの事情を Fig. 2-E にまとめてみると、低周波

Fig. 2 絶縁相 (f) と導電相 (w) との組み合わせ系

では電気容量 C が大きく (C_1) なり、高周波では小さく (C_2) なる。このように周波数の増大に伴ない、電気容量 C および誘電率 ϵ が減る現象を誘電分散、または誘電緩和という。誘電測定では、電気容量 C とともに必ずコンダクタンス G (抵抗 R の逆数、 $G = 1/R$) も測っている。誘電緩和現象では、コンダクタンスは増大する。(Fig. 4-B 参照)

以後の実例では、コンデンサーに測定試料を満たした全体の電気容量 C 、誘電率 ϵ およびコンダクタンス G 、導電率 κ を、広い測定周波数にわたって測定する。そして C 、 G などの数値そのものと、誘電緩和のパターンを解析し、吟味することによって、膜状不均質構造の特徴を捕らえ、構造に關係する量を決めてゆこうとする。

3. 平面膜構造の系

3.1 均質一相のみの系

Fig. 3-A に示すように、平行板コンデンサー内に、例えば KCl 水溶液を満たした場合を考えよう。すなわち均質一相で満たされている系では、この一相の誘電率 ϵ と導電率 κ が周波数によらない一定値を示すならば、Fig. 3-A のコンデンサー全体の電気容量 C は、

Fig. 3 均質一相の系と誘電率 ϵ 、導電率 κ

$$C = \epsilon \epsilon_0 S/d$$

であり、コンダクタンス G は、

$$G = \kappa S/d$$

で表される。広い周波数域にわたって、 C 、 G を実測し、 ϵ 、 κ を求めてみると、Fig. 3-B のようになる。

3.2 それぞれが均質な相二個の直列結合系¹⁾

ところが、Fig. 4-A のように均質な相が二個、直列につながった系では系全体としての C や ϵ 、あるいは G

Fig. 4 それぞれ均質な相二個の結合系と誘電率 ϵ , 導電率 κ

や κ は, Fig. 4-B のように測定周波数によって非常に変わる. すなわち, 構成する成分相 b と成分相 a とはそれぞれが周波数によらない値の誘電率 ϵ_f, ϵ_w , 導電率 κ_f, κ_w をもっているが, 結合した系全体としては, 電気容量 C およびコンダクタンス G は周波数によって変わる. すなわち誘電緩和現象をひき起こす.

このような二相直列結合系 (Fig. 5-A) は, Fig. 5-B のように誘電緩和を生じることが理論的に考察されている. その考察結果を用いると, 誘電緩和の観測結果から観測定数 (低周波, 高周波での電気容量 C_l, C_h ; コンダクタンス G_l, G_h) を知れば, コンデンサー内の試料の構成成分二相の定数 C_f, G_f, C_w, G_w などを容易に算出できる. すなわち, Fig. 5 の下部に示した算出式によって, コンデンサー内の試料の構成成分二相の定数 C_f, G_f, C_w, G_w などを容易に計算できる. したがって成分二相の誘電率, ϵ_f, ϵ_w と導電率 κ_f, κ_w も計算できる.

3・2・1 事例 I. 水中のポリスチレン膜^{1, 2)}

Fig. 6-A に示したような誘電測定セルを用いて, 水中にあるポリスチレン膜を測る. すなわち平行板コンデンサーの中に KCl 水相—膜—KCl 水相 という構造に配置して全体の電気容量 C とコンダクタンス G を測る. このような測定セルで膜・水相の系を測る効用は, 次の諸点である.

(i) 多くの場合, 膜は乾燥した状態でなくて, 水中にあって水を含んだ状態で使う. したがって水を含み, 膨潤した状態の膜の性質を知るためには, このように水中にある状態で測ることが望ましい.

(ii) 水相中にイオン, 界面活性剤などを混入して, 膜にイオンを浸み込ませたり, 膜に界面活性物質を吸着

算出式

$$A \equiv \left[\left(1 - \frac{G_f}{G_h} \right)^{-1} - \left(\frac{C_l}{C_h} - 1 \right)^{-1} \right] \left(\frac{C_l}{C_h} - 1 \right)^{1/2},$$

$$Y_f = \frac{1}{2} - \frac{1}{2} \left[1 + \left(\frac{2}{A} \right)^2 \right]^{-1/2},$$

$$C_f = \frac{C_h}{Y_f}, \quad C_w = \frac{C_h}{1 - Y_f},$$

$$A > 0 \text{ ならば } X_f \equiv Y_f + \left[Y_f (1 - Y_f) \left(\frac{C_l}{C_h} - 1 \right) \right]^{1/2},$$

$$A < 0 \text{ ならば } X_f \equiv Y_f - \left[Y_f (1 - Y_f) \left(\frac{C_l}{C_h} - 1 \right) \right]^{1/2},$$

$$G_f = \frac{G_l}{X_f}, \quad G_w = \frac{G_l}{1 - X_f},$$

$$\epsilon_f = C_f \frac{d_f}{\epsilon_v S}, \quad \epsilon_w = C_w \frac{d_w}{\epsilon_v S},$$

$$\kappa_f = G_f \frac{d_f}{S}, \quad \kappa_w = G_w \frac{d_w}{S},$$

Fig. 5 平面状二相構造と誘電緩和の観測結果. 観測値から構成成分相の定数を算出する式

させたりする. このような現象の平衡状態にある膜の性質を知ることができる.

Fig. 6-A の測定セルの系で, 水相のいろいろの KCl 濃度において, C と G の周波数変化を測った結果は, Fig. 6-B のようである. すなわち, C, G はいずれも観測周波数 f によって著しく変化し, Fig. 5-B の理論結果のようにになっている. また横軸に電気容量 C を, 縦軸に誘電損失 $\Delta C'' \equiv (G - G_l)/(2\pi f)$ をとった図形, いわゆる Cole-Cole の複素容量図を作ると, Fig. 6-C のように半円になる. このような規則性のある結果により, Fig. 5 で述べた二相構造の誘電理論が成り立っていると考えられるから, Fig. 5 下方の算出式により, C_l, C_h, G_l, G_h などの値から $C_f, G_f, C_w, G_w, \epsilon_f, \kappa_f, \epsilon_w, \kappa_w$ などを算出できる.

このようにして, HCl 水相中のポリスチレン膜の系

Fig. 6 平面状二相構造の例：水中ポリスチレン膜

について得られた結果の C_f , κ_w , κ_f などの HCl 濃度変化を図示すると, Fig. 7 のようになる。膜の容量 C_f は HCl 濃度によらず一定値である (Fig. 7-A)。これは膜の電気容量 C_f が, HCl 濃度によらないだろうという常識にあった結果であり, この C_f 値を用いて膜の誘電率 ϵ_f を算出してみると, $\epsilon_f = 2.65$ となり, 乾燥状態の文献値 $\epsilon_f = 2.45 - 2.68$ とよく一致している。

水相の導電率 κ_w は, Fig. 7-B に見られるように, 水相の HCl 濃度に比例して増大している。これは常識に

合っている。ところでポリスチレン膜の導電率 κ_f は, ポリスチレンという材質に固有の導電率値であるか, と予想したが, 全く予想に反して, κ_f は HCl 濃度に比例している (Fig. 7-C)。したがって, 比 κ_f/κ_w を採れば, Fig. 7-D のように, HCl 濃度によらず一定値になる。また, $\kappa_f/\kappa_w \approx 10^{-5}$ の程度の大きさである。これらを総合すると, ポリスチレン膜には, 膜面積の $1/10^5$ 程度の面積の機械的小穴があいていて, その穴に隣接イオン水溶液が浸みこみ, これが膜のコンダクタンスとなって発

Fig. 7 水中ポリスチレン膜の C_f, κ_f の挙動

現するのだらうと考えられる。この膜の電導性は、電解質水溶液に浸したために生じるものであって、乾燥膜には全く見られない特性である。

3・2・2 実例 II. 水中の逆浸透膜^{3, 4, 22)}

逆浸透膜は、必ず水と共存した状態で使うものであり、イオンを通さないという特性から考えて、ここに用いる誘電測定セルおよび誘電的手法の特色がもっともよく利用される対象と考えられる。ダイセル社製 DRS 97 という逆浸透膜を採り上げ、Fig. 6-A の測定セル系で誘電測定をした結果を Fig. 8-B に示す。この図からすぐわかるように、周波数領域 $10^3 \sim 10^5$ Hz にわたって、測定される膜・水相の系全体の電気容量 C は 10^5 pF から 10 pF まで減少し、コンダクタンス G は 4 mS から 5 mS まで増大している。すなわち著しい誘電緩和現象が観測できた。これらの図および複素電気容量図 (Fig. 6-C のようなもの) を作って正確に C_f, C_w, G_f, G_w の値を読みとり、Fig. 5 の下方に示した算出式によって、膜 (f) や水相 (w) の電気容量 C_f, C_w やコンダクタンス G_f, G_w を容易に求められる。Fig. 8 の左下方参照。

得られた結果は、 $C_f = 1.28 \mu\text{F}$, $G_f = 20.3$ mS, $C_w = 16.1$ pF, $G_w = 5.31$ mS である。この水相値 C_w, G_w は

Fig. 8 平面状二相構造の例: 逆浸透膜

妥当な大きさであるが、膜についての C_f 値が $1 \mu\text{F}$ ($= 10^{-6} \text{ F}$) の桁であることは異常に大きい値だといえる。前節の例のポリスチレン膜では、Fig. 7-A に見られるように $C_f \approx 2$ nF ($= 2 \times 10^{-9} \text{ F}$) という程度であるから、それに比べると、この逆浸透膜の C_f は $1,000$ 倍という大きな値である。これは一体どういうことだろうか。

この逆浸透膜の材料は acetyl cellulose である。この材料の誘電率 ϵ_{AC} を別途に測定すると、 $\epsilon_{AC} = 11.8$ を得た。この材料で何か薄膜ができていてと考え、その薄膜部分の電気容量が上記の $C_f = 1.28 \mu\text{F}$ となると考えると、それに対応する薄膜部分の厚さ t は

$$t = S \cdot \epsilon_{AC} \cdot \epsilon_0 / C_f = 256 \text{ \AA}$$

となる。他方、 $C_f = 1.28 \mu\text{F}$ を呈した逆浸透膜の厚さをマイクロメータで測ってみると、厚さは $74 \mu\text{m}$ ($= 740,000 \text{ \AA}$) という値である。ではこのように誘電測定にかかわってくる厚さ $256 \text{ \AA}$ とは、どのような意味をもつのであろうか。

電子顕微鏡観察によると、逆浸透膜は Fig. 8-C に描いたような不均質な構造である。すなわち、光沢のある表側と光沢のない裏側とが区別できて、表側には $300 \text{ \AA}$

Fig. 9 平面状二層構造の例：水中の脂質二分子膜 (BLM)

くらいの厚さの非常に密な部分が認められる。これを超薄膜部分と呼び、それに続いて細かい多孔質部分があり、次第に粗い多孔質となって裏側の面にいたっている。この多孔質部分は超薄膜を補強する支持膜となっている。この多孔質支持膜が、マイクロメータで測った $74 \mu\text{m}$ という厚さなのである。このように考えると、多孔質部分はイオン溶液が容易に浸み込むので、水相に近い電導性を示すのであろう。表側の超薄膜密層として観察される部分は、イオンが浸み込むことができず、絶縁性であるために、絶縁膜の容量として $C_f = 1.28 \mu\text{F}$ とい

う大きい値を示したと考えられる。すなわち、電子顕微鏡観察で約 $300 \text{ \AA}$ と推定された超薄膜の厚さが、誘電観測によってはっきりと算出されたのである。

3・2・3 実例 III. 水中の脂質二分子膜⁵⁻⁸⁾

水中で形成される脂質二分子膜 (通称黒膜, 略称 BLM, Bilayer Lipid Membrane) は、水中でのみ安定に存在するから、水中膜の誘電測定手法は必須の解析手段である。

Fig. 9-A に図示するように、ビーカーに水を満たし、その中にテフロンポットを支え、二電極を入れる。この

Fig. 10 均質な相三個の直列結合系

テフロンボットの側面には直径約 1 mm の小穴があいている。レシチンのデカン溶液を用意し、この油相を小筆で小穴にぬりつける。適当にこの小穴部分を照明して、肉眼または長焦点顕微鏡で観察する。小穴部分に塗りつけられた油相は次第に広がって薄くなり、虹状態を呈し、終わりには無色で透明の超薄膜になる。膜の背面を暗く

しておくと、膜は暗く見える。これを通称黒膜 (Black membrane) という。この配置を断面的に描くと、Fig. 9-B のようになる。すなわち、水相—脂質の黒膜—水相という状態を二電極間にはさんで誘電測定をすることになる。

この Fig. 9-B の状態で、広い周波数領域にわたって

系全体の電気容量 C , コンダクタンス G を測ってみると, Fig. 9-C のようになる. すなわち著しい誘電緩和現象が得られる. この現象は水相と脂質黒膜との直列結合によるものと考えられる. C_i , C_h , G_i , G_h の値を読み取り, Fig. 5 下方の算出式によって, 黒膜 (f) と水相 (w) との電気容量 C_f , C_w やコンダクタンス G_f , G_w (Fig. 9-D の定数) を求められる.

この 水-黒膜 という系では 膜 $G_f \ll$ 水 G_w であるから, 算出式は非常に簡単になり

$$C_i \approx C_f \text{ (黒膜の容量)} = \epsilon \epsilon_0 S/d,$$

となる. S は膜面積 (1.05 mm^2), d は膜の厚さである. 膜成分の油相の誘電率 $\epsilon_f = 2.05$, 実測値 $C_f = 4,040 \text{ pF}$ などを用いると, 膜の厚さ d は

$$d = \frac{\epsilon \epsilon_0 S}{C_f} = 47.2 \text{ \AA}$$

と算定される. すなわち誘電的手法によれば, この水中黒膜は $47 \text{ \AA}$ という大変薄い膜であると断定された.

この水中黒膜をレシチンの単分子層二枚を貼り合わせたものと考えると, レシチン分子の炭素鎖部分が約 $23 \text{ \AA}$ であるから, 二分子層では厚さが $23 \text{ \AA} \times 2 = 46 \text{ \AA}$ ということが考えられる. したがって, 上記の誘電的手法では, $47 \text{ \AA}$ という直接測定値を示したことになる. これでレシチン二分子膜の構造を明らかにする有力な知見が得られた. 別に電子顕微鏡観察による結果では, レシチン二分子膜の厚さは約 $80 \text{ \AA}$ と判定された. この電顕値は, レシチン分子の親水基までも含めた分子全長をとらえたものと考えられ, 誘電的手法による炭素鎖部分に対する $47 \text{ \AA}$ と相俟って, 二分子膜構造を保証している.

3・3 三相の層状直列結合系⁹⁾

Fig. 10-A に描いたように, 三相が平面層状直列につながった系は, 各相の電気容量 C_h , C_f , C_a とコンダクタンス G_h , G_f , G_a を用いれば, Fig. 10-B のような電気回路と等価な誘電挙動を示すことが理論で証明されている.

Fig. 10-A の配列は, Teflon などの膜を Fig. 6-A の測定セルに取り付けて, 膜の両側 (b相とa相) には, たがいに異なる液を満たした状態に相当する. この配置で Fig. 10-C のように, 右 a 相は 10 mM KCl 液, 左 b 相は蒸留水としたときの系全体の電気容量 C の周波数 f 変化は Fig. 10-D のようになる. その複素電気容量図 ($\Delta C'' \equiv (G - G_i)/(2\pi f)$ 対 C の図) を, Fig. 10-E に示してある. これらの図では, 明らかに誘電緩

和が 10^4 Hz と 10^7 Hz の 2 個所にみられる. この低周波側の緩和を「P-緩和」(P-relaxation), 高周波側のものを「Q-緩和」(Q-relaxation) と名付けよう.

つぎに, 左 b 水相を順次 0.1 mM , 1 mM , 10 mM KCl 液のように変えてゆくと, Fig. 10-D に見られるように, Q-緩和は変わらないが, 低周波側の P-緩和は次第に高周波側に移動してゆき, ついには Q-緩和の周波数位置にいたって, 見かけ上は緩和が 1 個になってしまう. このとき膜の両面の b 相, a 相は同じ濃度の 10 mM KCl 液になっている.

さらに Fig. 10-F に示すように, 左 b 水相は蒸留水のままにして, 右 a 水相を 10 mM KCl から順次 1 mM , 0.1 mM , 蒸留水, のように変えてゆく. すると, Fig. 10-G に見られるように, P-緩和は変わらないが, 高周波側の Q-緩和は次第に低周波側に移動してゆき, ついには P-緩和に重なってしまい, 見かけ上は緩和が 1 個になってしまう. このときの膜の両面の b 相, a 相はいずれも同種類の蒸留水になっている.

このような挙動は, 次のような規則性としてまとめることができる.

(1) Fig. 10-A のような層状構造の系では, 互いに接する二相の境界面 1 個に対して, 1 個の誘電緩和が現れる.

(2) したがって Fig. 10-A では, 一般的に b 水相-膜相, および膜相-a 水相, というように境界面 2 個があり, それぞれに対応する緩和があるから, 緩和は合計 2 個となる.

(3) [低電導度の b 水相]-膜相 の境界面に対応する緩和は, Fig. 10-D の低周波側の P-緩和であり, [高電導度の a 水相]-膜相 の境界面は, 高周波側の Q-緩和を形成する.

(4) Fig. 10-A で, b 相と a 相が同一種類のものになると, 境界面の種類は 1 種類になる. それに対応して, P-, Q-の 2 緩和はたがいに重なって 1 個の緩和になってしまう.

このように考えると, さきに示した Fig. 2-A の系では, Fig. 2-E のように緩和が 1 個であったことがうなずける. Fig. 4-A の一境界面に対して, Fig. 4-B のように緩和が 1 個であってよろしい. また, Fig. 6-A のポリスチレン膜-水相系や, Fig. 8-A の逆浸透膜-水相系, さらに Fig. 9-B の水中脂質二分子膜系などは, すべて膜の両側が同種類の水相である. したがって膜面は左・右二面あるが, 種類としては 1 種類であるから,

誘電緩和は1個である。すなわち誘電緩和の数は、界面の数ではなくて、界面の種類の数に等しいようになるものと考えられる。

この節の三相直列結合系の理論から導かれる解析法は、まだ実用的簡便かつ有効なまでには消化されておらず、今後の開発が期待される。この三相系の理論解析は、

Fig.11 球状二相構造と誘電緩和の観測結果

水相から膜表面に物質が吸着する状況や、水中における膜表面・表層の異常などの考察にとって有力な手段となるであろう。

4. 球状構造の系

この節では、境界面が球面状に弯曲したいろいろな系をとりあげ、誘電緩和の形式や個数などの特徴を調べよう。

4・1 油中水滴型 (W/O) エマルション¹⁰⁻¹²⁾

Fig. 11-A に示すように、油相 (誘電率 ϵ_a 、導電率 κ_a) の中に水滴 (ϵ_i, κ_i) が体積分率 ϕ だけ混入・分散した W/O 型エマルションを調製し、このエマルション全体の誘電率 ϵ と導電率 κ を、周波数を広く変えて測ってみると、Fig. 11-B のようになる。すなわち明らかに誘電緩和が見られる。この緩和は Fig. 2 で説明した機構と似ていて、電圧をかけたとき、水滴中のイオンが油相に進入できないために 水-油の境界面に溜る現象、すなわち界面分極現象に起因している。

このような球形粒子分散系の誘電理論はよく展開され、解析されている。その結果の実用的な式は、Fig. 11 の下部にあげてある。したがって Fig. 11-B の実測結果から $\epsilon_i, \epsilon_h, \kappa_i, \kappa_h$ を読みとり、これらの量を Fig. 11 の下部に示した式に順次代入してゆくこと、エマルション濃度 ϕ 、外側の油相値 κ_a 、分散している水滴の ϵ_i, κ_i などが簡単に得られる。

このような誘電解析手法の実例を次に示そう。Fig. 12-A のような W/O エマルションを誘電率測定して、Fig. 12-B のような結果を得た。すなわち、蒸留水粒子

Fig. 12 球状二相構造の例：油中水滴 W/O エマルション

の W/O エマルションでは、 ε が著しく減る周波数（緩和周波数、 f_o ）が 7×10^4 Hz くらいであるが、10 mM、20 mM KCl などの水粒子の W/O エマルションでは、 f_o は増大し、50 mM KCl エマルションでは $f_o = 4 \times 10^7$

Table 2 W/O エマルションの誘電緩和観測結果より算出した水粒子の体積分率 Φ 、誘電率 ε_i 、導電率 κ_i などの値¹²⁾

試料調製 Φ 値	実測結果からの算出値		
	Φ	水粒の ε_i	水粒の $\kappa_i / \mu \text{Scm}^{-1}$
0.5	0.503	76.8	5.07
0.6	0.605	73.2	7.51
0.7	0.682	76.9	4.17
0.75	0.736	79.6	2.93
0.8	0.784	81.1	2.37
	水、直接測定	80.1	2~3

Hz にも増えている。

これらの測定値を理論式に代入して、試料 W/O エマルションの構成成分相の定数を算出すると、Table 2 のようになる¹²⁾。この表を通覧すると、次のことがわかる。

(1) 誘電測定結果から求めた濃度 Φ の値は、初めての W/O エマルション調製時に測ってある Φ 値とよく一致している。

(2) 水粒子の誘電率 ε_i は、水を直接測った値に近い。

(3) 水粒子の導電率 κ_i は、調製操作中にいくらか汚れたようであるが、水の直接測定値に近い。

このような結果から見ると、誘電測定・解析の利点としては、次のことがあげられる。

(1) エマルションをそのまま濃度 Φ を知ることができる。

(2) エマルションを破壊せずに、水粒子の誘電率 ε_i 、や導電率 κ_i を知ることができる。 ε_i は水相成分の組成を、 κ_i はイオン濃度を推定するのに有効な量で

理論式

$$\varepsilon_i = \frac{3}{2} \varepsilon_i + \left(\varepsilon_a - \frac{3}{2} \varepsilon_i \right) (1 - \Phi)^{3/2}, \rightarrow \varepsilon_i$$

$$\left(\frac{\varepsilon_h - \varepsilon_i}{\varepsilon_a - \varepsilon_i} \right) \left(\frac{\varepsilon_a}{\varepsilon_h} \right)^{1/3} = 1 - \Phi, \rightarrow \varepsilon_h$$

$$\frac{\kappa_i}{\kappa_a} = (1 - \Phi)^{3/2}, \rightarrow \kappa_i$$

$$\frac{\kappa_h}{\kappa_a} = \frac{\varepsilon_h (\varepsilon_h - \varepsilon_i) (2 \varepsilon_a + \varepsilon_i)}{\varepsilon_a (\varepsilon_a - \varepsilon_i) (2 \varepsilon_h + \varepsilon_i)}, \rightarrow \kappa_h$$

算出値

数値
ほぼ同じ

数値
ほぼ同じ

Fig. 13 球状二相構造の例：水中油滴 O/W エマルション

Fig. 14-A ポリスチレン・マイクロカプセルの走査型電子顕微鏡写真

Fig. 14-B ポリスチレン・マイクロカプセル. 安全カミソリで球殻を割ったすがた. 球殻の厚さは約 $3\ \mu\text{m}$.

ある.

なお、この W/O 型エマルションでは、水・油境界面が 1 種類あるので、誘電緩和も 1 個あるという法則性が成り立つ.

4・2 水中油滴型 (O/W) エマルション^{13, 14)}

エマルションには前節と反対の型、すなわち O/W 型エマルションがある (Fig. 13-A 参照). この O/W エマルションを誘電測定してみると、Fig. 13-B に示すようにエマルションの誘電率 ϵ も導電率 κ も、周波数 f によって変わらない一定値を示した. さきの W/O エマルションの結果の図、Fig. 12-B とは非常に違っている. すなわちこの O/W 型エマルションでは、(1) ϵ , κ は周波数 f に対して不変である. すなわち、誘電緩和はない. (2) 電場によって動くイオンは油粒子を避けて流動してゆくらしい. その結果、電荷が相境界面に溜らない. というような特徴が見られた.

この O/W 型分散系の理論式を Fig. 13 の下方にあげる. ここで成分水相や油相の定数 ϵ_o , ϵ_i を代入して、 ϵ_i と ϵ_o , あるいは κ_i/κ_o , κ_o/κ_o 値を計算してみると、数値として、 $\epsilon_i \approx \epsilon_o$, $\kappa_i \approx \kappa_o$ という結果になる. すなわち、誘電緩和が極めて小さくて、観測にかからないのだということになる. このように、二相境界面は存在す

るけれども、誘電緩和はない、ということもある.

5. 球殻状構造の系

ここでは球殻すなわち球形膜の系を採り上げよう. 人工系としてはマイクロカプセルがあり、天然の系としては、多くの生物細胞類がこの球殻構造をとっている.

5・1 マイクロカプセル^{5, 6)}

ポリスチレンを材料にして作ったマイクロカプセルの外観は、Fig. 14-A のように単なる球形粒子に見える. これらの粒子をカミソリ刃で切り開いた状態を Fig. 14-B に示す. このようにマイクロカプセルは球形の薄い殻である. これを簡単に図示すると、Fig. 15-A のように厚さ $d = 1 \sim 5\ \mu\text{m}$ で、直径 $D = 100 \sim 300\ \mu\text{m}$ の中空の球殻と考えてよく、中には水溶液などを詰めることができる.

カプセル内部の水相の誘電率を ϵ_i , 導電率を κ_i とし、Fig. 15-B のような平行板コンデンサー内に沈積するようにぎっしり詰める. その濃度(体積分率)を Φ とする. このようなカプセル系の誘電率 ϵ を測ると、Fig. 15-C

Fig. 15 球形膜の例: ポリスチレン・マイクロカプセル

Fig. 16 球形膜の例: イースト細胞懸濁系

ようになる。すなわち、明らかに2個の誘電緩和が見いだされる。

そこで低周波側の緩和をP-緩和、高周波側のものをQ-緩和と呼ぶ。P-, Q-緩和の中間で、 ε が停留する値を ε_m と記す。この図から、 ε_i , ε_m , ε_h あるいは導電率 κ_i , κ_m , κ_h などを読みとり、Fig. 15の下部に記した理論式による処理を経ると、カプセルの濃度 Φ 、カプセル殻の厚さ d 、内部水相の ε_i , κ_i などを算出できる。このようにして、マイクロカプセルの球殻をこわさずに、殻内部の ε_i , κ_i などを知ることができる。

ところでこの Fig. 15-C の2個の緩和は何に起因するのだろうか。そこでカプセル試料を蒸留水で洗っては測るということを繰り返してみる。すると Fig. 15-C に実線で描いてあるように、P-緩和のみが左方へ、すなわち低周波へ移動してゆく。そして、Q-緩和は全く変わらない。また別の試料調製を始めから繰り返して、内部に詰める水相の電解質濃度を、すなわち電導度を変えてみる。するとQ-緩和が低周波側へ移動したりする。これらをまとめて考えてみると、カプセルの外側表面という境界面が、P-緩和を形成し、カプセルの内側境界面がQ-緩和を作り出しているというように考えられる。(Fig. 15-B 参照)

すなわち、カプセルの内水相(κ_i)に比べて、外水相

の導電率(κ_o)が低い場合には、カプセル殻の外表面(外側境界面)がP-緩和を形成し、殻の内表面(内側境界面)がQ-緩和をもたらしている。2種類の境界面があるから、2個の誘電緩和がある。そして、内・外水相の導電率が互いに等しくなると、P-, Q-緩和は接近し、合一してしまう。ただし、境界面が球形であるために、 $\kappa_i = \kappa_o$ のときでも、P-, Q-緩和はごく僅か離れているようである。

マイクロカプセルの殻を通してイオンが外へ漏れ出すような場合には、マイクロカプセルを長時間にわたり誘電観測をすれば、内・外水相の導電率の時間的変化からイオン濃度の変化を推定できる。このような手法でイオンのカプセル透過性を研究することができる。また緩和図形の異常な形式などから、イオン透過性の特性などを考察することもできる。

5・2 イースト細胞懸濁系^{17, 18)}

生物細胞は、大きさがよく揃った球殻構造の粒子といえる。したがって Fig. 16-A に示すように、球殻状粒子の懸濁系と考えてよい。測定セルにイースト細胞を詰めて、誘電測定した結果は Fig. 16-B のようである。すなわち $10^5 \sim 10^7$ Hz の周波数領域で大きな誘電緩和がある。今までの引用例では誘電率の変化量が10~100

(A)

(B)

(C)

(D)

理論式 (省略)

実測点の全部によく合うように各相定数を決める。

細胞全体の体積分率, $\Phi = 0.155$

細胞膜, $\varepsilon_s = 8.68$, $\kappa_s = 0$,

原形質, $\varepsilon_c = 77$, $\kappa_c = 11$,

核膜, $\varepsilon_n = 16$, $\kappa_n = 9 \times 10^{-3}$,

核原形質, $\varepsilon_k = 300$, $\kappa_k = 7 \text{ mS cm}^{-1}$

細胞膜容量, $C_s = 0.96$,

核膜容量, $C_n = 0.35 \text{ } \mu\text{F cm}^{-2}$

Fig. 17 球形膜の例: Lymphoma 細胞系

であったのに対して、このイースト細胞懸濁系では、 ~ 1000 という大きい値である。これは細胞膜の厚さが $50 \text{ \AA}$ 程度という極めて薄いことによる。複素誘電率図を描けば Fig. 16-C の図に見られるように、円弧になっている。

これらの観測値から、 ϵ_i 、 ϵ_m などの観測結果を表す特性量を読み取る。これらを理論式に代入すれば、イースト細胞膜の電気容量 $C_M = 1.16 \text{ } \mu\text{F/cm}^2$ 、内部相の誘電率 $\epsilon_i = 51$ 、導電率 $\kappa_i = 2.5 \text{ mS/cm}$ などが得られる。細胞濃度、外液の KCl 濃度、外液の糖濃度などを変えても、上記の値はほとんど一定に保たれることもわかった。

ところで Fig. 16-A のように、細胞膜は外側境界面と内側境界面というように 2 面あるのに、なぜ誘電緩和

は 1 個なのであろうか。これについて理論式によっていろいろ数値計算してみると、次のようにわかってきた。前節のマイクロカプセルの例のように、比、殻厚 $3 \text{ } \mu\text{m}$ / 球殻直径 $300 \text{ } \mu\text{m} = 1/100$ くらいならば P-, Q- の 2 緩和は、Fig. 15-C のようにたがいに同程度の大きさになる。ところがイースト細胞では、膜厚 $50 \text{ \AA}$ / 細胞直径 $3.8 \text{ } \mu\text{m} \approx 1/1000$ という小さい値になると、P-緩和が大変大きくなり ($\epsilon \sim 1000$)、Q-緩和が大変小さくなって、P-緩和の陰にかくれてしまう、ということがわかった。したがって Fig. 16-B のように P-緩和 1 個だけが観測されたのである。

なお、Fig. 16-A のように細胞を傷つせずに長期継続観測ができるから、細胞増殖のモニターとしても広く応用されている。

Fig. 18 球形膜粒子が多種類混在する系の例：j, k 二種類粒子系の理論式による数値計算結果

5・3 Lymphoma 細胞系^{19, 20)}——二重膜球の例

この Lymphoma 細胞というのは、白血病細胞の一種であるが、Fig. 17-A に見られるように、この細胞直径は $13\ \mu\text{m}$ であるのに対して、この細胞内には直径約 $9\ \mu\text{m}$ という大きな核があるという特徴ある構造である。したがって、このように体積割合の大きな核ならば、誘電現象に反映するにちがいない。そのような見込みから、Fig. 17-B に示すように、細胞膜 (添字, s)、原形質 (c)、核膜 (n)、核原形質 (k)、そして細胞をとりまく外液 (a) という 5 相二重膜球の懸濁系を考える。そしてこの誘電理論がつくりあげられ、式としてよく解析・検討されている。

この理論式はかなり複雑なので、ここでは省略してこの理論式を用いて実測値を解析した結果のあらましを述べよう。

Fig. 17-C には、Lymphoma 細胞懸濁系の誘電率 ε と導電率 κ とを、10 kHz~100 MHz にわたって測った実測点 (○印) を示してある。1 MHz 前後において ε は減少し、 κ は増大している。すなわち、明らかに誘電緩和が見られる。さきに述べた 5 相二重膜球懸濁系の誘電理論の値が、この Fig. 17-C の実測点になるべく合うように、理論式の中の諸定数 (各相の誘電率と導電率など) を決めてゆく。その途中の手順は省略して最終的な理論曲線は、Fig. 17-C の中に実線で示してある。測定周波数全域にわたって、実測点とよく一致している。このときに用いている各相定数は、Fig. 17-D に列挙し

てある。なお、Fig. 17-C の破線曲線は、核膜を考えないで、細胞内をただ一種類の相 (原形質のみ) として取りあつた一重膜理論の理論曲線である。この場合には、10 MHz 以上の高周波側で実測値から著しくはずれ

る。生物細胞膜の電氣的性質の研究者の間では、細胞膜単位面積当たりの電気容量 C を議論することが多いので、Fig. 17-D には細胞膜の値 $C_s [\mu\text{F cm}^{-2}]$ と、核膜の値 $C_n [\mu\text{F cm}^{-2}]$ を列挙してある。このように細胞をこわさずに、細胞内部の誘電率 ε_c , ε_k や導電率 κ_c , κ_k などを推定できることは、この誘電測定手法の特長である。とくに、細胞内奥にある核の膜の電気容量 C_n を、数値を示して査定したのは初めての試みである。

以上をまとめると、(1) 細胞膜 (添字, s)、原形質 (c) についての誘電率、導電率は正確に決め得る。

(2) 細胞内奥部の核膜 (n)、核原形質 (k) についての量は、精度がおちて、10~30% の誤差内で決められる。

5・4 一重被膜球が多種類混在する系²¹⁾

一重の被膜球が多種類混在している系の理論立式は、すでに説明した 5・1 項のマイクロカプセルの誘電理論構成を拡張してゆけばよい。添字 j と k で区別した二種類の混在する状態について、Fig. 18-A に図示してあるように、それぞれの粒子種類について誘電率 ε 、導電率 κ 、粒子外直径 D_j , D_k 、球形膜の厚さ d_j , d_k 、体積分率 Φ_j , Φ_k などを用いて立式されている。²¹⁾ 式としてはむずかしい式ではないが、複素誘電率 $\varepsilon^* = \varepsilon + \kappa / (j\omega\epsilon_0)$ を用いたながながとした形であり、ここでは省略する。

Fig. 18-B にあげたような数値群を上記の理論の式に代入して、系全体の誘電率 ε 、導電率 κ の周波数 f に対する変化を数値計算すると、Fig. 18-C, 18-D のようになる。これらの図中の矢印は誘電緩和現象が起きている周波数位置 (図中で各 4 箇所) を示している。さらに Fig. 18-E にはこれらの計算結果を使って、横軸に誘電率 ε を、縦軸に誘電損失 $\Delta\varepsilon \equiv (\kappa - \kappa_i) / (2\pi f \epsilon_0)$ をとった複素誘電率図を示した。この図によって、4 個の山、すなわち 4 個の誘電緩和が確認できる。

Fig. 18-B に示した数値群を調べるとすぐわかることであるが、相の境界面の種類 (種類はたがいに接する相の各 2 個の ε と κ とで特徴づけられ、区別される。) は j 種粒子群に 2 種類と、 k 種群に 2 種類とで、計 4 種類

Table 3 不均質構造系の誘電緩和特性、まとめ

構 造	物 質	緩和 数	得られる知見
平面, 二相	水中ポリスチレン膜	1	水中での ε , κ イオンの通りやすさ
	水中二分子膜	1	膜厚の推定
平面, 三相	水中高分子膜	2	水中での ε , κ イオンの通りやすさ
球 状	O/W エマルション	0	粒の濃度 凝集状態
	W/O エマルション	1	
被膜球	マイクロカプセル	2	膜厚, 内相の ε , κ 膜を通して浸み出し
	生物細胞	1	非破壊, 内部推定
二重 被膜球	Lymphoma 細胞	1	細胞質, 核質の ε , κ , イオン濃度
被膜球 二種類	理論	複数	

ある。したがって、誘電緩和が4個あるという規則性が得られる。試みに相境界面の種類を3種類、あるいは2種類に減らすように数値群を変えると、誘電緩和の数も3個あるいは2個に減ることが確かめられている。Fig. 18-Eに見られるように明瞭に誘電緩和4個をもった物質の実例はまだ知られていない。

6. まとめと展望⁹⁾

以上にあげたいろいろな構造の物質の誘電挙動の特徴を、Table 3にまとめてある。平面二相系の例は、水中膜であり、誘電緩和は1個見られる。誘電観測の結果から得られる知見は、水中での ϵ 、 κ の求値、イオンの通りやすさの判定、膜の厚さの推定などである。以下Table 3の各行に示されているような事情である。

全体に共通する規則性として、相境界面の種類の数だけ誘電緩和が観測される。ただし場合によっては、O/W エマルションや細胞懸濁系のように、誘電緩和の数が増えることもある。しかし、相境界面数よりも多くなることはない。

全般を見渡してみると、次のような諸項目にまとめられる。

1. 物質が電氣的に、すなわち誘電率・導電率について不均質であれば、大きい誘電緩和が現れる。

2. [平面膜または球形膜]と[隣接水相]との組み合わせ系では、理論とその式が示されている。したがって、誘電観測結果の定量解析ができる。

3. 理論式を用いた解析処理によって、分子や相の集合構造がかなり解明される。たとえば、エマルション型の判定、膜の多層構造の判定、二分子膜などの厚さの推定など。

4. 難点としては：均質な物質が示す誘電緩和、例えば分子の極性部分の誘電緩和と不均質構造による誘電緩和との識別や分離は、一般には困難である。誘電緩和の大きさ、 $\Delta\epsilon = \epsilon_i - \epsilon_h$ が小さい($\Delta\epsilon \sim 10$ 以下)場合は極性部分の緩和であり、これが大きい($\Delta\epsilon$ が数 $10 \sim 10^2 \sim 10^3$ くらい)ときには不均質構造によると考えられる。しかし、場合に応じて考えねばならない。

5. 高周波領域($10^7 \sim 10^{10}$ Hz)の誘電緩和観測は、今のところ誤差が多くて困難である。

6. ここにあげた不均質集合体は、大体において $0.1 \mu\text{m}$ ($=100 \text{ nm}$)より大きい尺度の不均質構造である。

文 献

- 1) H.Z. Zhang, T. Hanai and N. Koizumi: Bull. Inst. Chem. Res., Kyoto Univ., **61**, 265, 1983
- 2) H.Z. Zhang, K. Sekine, T. Hanai and N. Koizumi: Membrane, **8** (4), 249, 1983
- 3) 安積欣志, 花井哲也: 第7回日本膜学会年会講演要旨集, p. 74, 1985
- 4) K. Asaka and T. Hanai: The 1987-ICOM in Tokyo, 342, 1987
- 5) T. Hanai, D.A. Haydon and J. Taylor: Kolloid Z., **195**, 41, 1964
- 6) T. Hanai, D.A. Haydon and J. Taylor: Proc. Roy. Soc., **A 281**, 377, 1964
- 7) T. Hanai, D.A. Haydon and J. Taylor: J. Gen. physiol. **48**, Part 2, 59, 1965
- 8) T. Hanai, M. Kajiyama, S. Morita and N. Koizumi: Bull. Inst. Chem. Res., Kyoto Univ., **47**, 327, 1969
- 9) T. Hanai, H.Z. Zhang, K. Sekine, K. Asaka and K. Asami: Ferroelectrics, **86**, 191, 1988
- 10) T. Hanai: Kolloid Z., **177**, 57, 1961
- 11) T. Hanai: Kolloid Z., **171**, 23, 1960
- 12) T. Hanai, T. Imakita and N. Koizumi: Colloid and Polymer Sci., **260**, 1029, 1982
- 13) T. Hanai, N. Koizumi and R. Gotoh: Kolloid Z., **167**, 41, 1959
- 14) T. Hanai, N. Koizumi, T. Sugano and R. Gotoh: Kolloid Z., **171**, 20, 1960
- 15) H.Z. Zhang, K. Sekine, T. Hanai and N. Koizumi: Colloid and Polymer Sci., **261**, 381, 1983
- 16) H.Z. Zhang, K. Sekine, T. Hanai and N. Koizumi: Colloid and Polymer Sci., **262**, 513, 1984
- 17) K. Asami, T. Hanai and N. Koizumi: J. Membrane Biol., **28**, 169, 1976
- 18) K. Asami: Bull. Inst. Chem. Res., Kyoto Univ., **55**, 283 and 394, 1977
- 19) A. Irimajiri, Y. Doida, T. Hanai and A. Inouye: Biophysical J., **17**, 167a, 1977
- 20) A. Irimajiri, Y. Doida, T. Hanai and A. Inouye: J. Membrane Biol., **38**, 209, 1978
- 21) T. Hanai and K. Sekine: Colloid and Polymer Sci., **264**, 888, 1986
- 22) K. Asaka: Membrane, **14** (1), 54, 1989

(受付1988年10月29日)