

葉組織の非接触法によるインピーダンス測定の試み

川端自人・鍛代邦夫(日大生物資源)・本江一郎

要旨:生体のインピーダンスは、細胞の活性度や生体内の含水量をあらわすとされている。市販されている積水化学工業(株)製の体脂肪計 MLT-30 を使用して、樹木の活性度を調べるために葉組織のインピーダンス測定を試みた。人体用のゲル付き接觸電極を使用した測定では、葉の表面のクチクラ層を取り除かないと測定できない、接觸部の葉組織を変化萎縮させてしまうなど非破壊の検査が難しいことから、葉組織を水溶液中に入れて、水溶液ごとインピーダンスを測定する非接触電極法を試みた。KCl 水溶液(0.001mol/L)を使用し、葉組織を傷つけることなくインピーダンスを測定できた。また、自然乾燥した葉や組織を漬した葉のインピーダンスの変化を確認できた。

キーワード:生体インピーダンス、水中非接触電極、膜容量、内液抵抗、外液抵抗、活性度

I はじめに

生物組織の電気的測定の、インピーダンスを用いる方法は、これまで多くは食品の品質検査や、木材の含水率の分析のために行われている(1,5)。植物組織の活性度を知る目的での測定は、樹幹細胞での測定例(4)がある。細胞膜の損傷や腐敗などによる劣化や組織の含水率などの、非破壊での測定に有効であることが報告されている。

従来のほとんどの測定事例では、工業用のインピーダンス・アナライザあるいは目的に合わせた自製の測定機が使われている。工業用インピーダンス・アナライザは、汎用目的でかつ高精度を実現しているため数百万円もする高額で大型なものが多い。

積水化学工業(株)製の体脂肪計 MLT-30 は、ポータブルな形状かつ低価格で、人体組織のインピーダンスを 2.5kHz~350kHz の帯域について測定できる。樹木研究の現場でインピーダンス測定を簡易に適用できることを目的に、この装置を使用した葉組織のインピーダンス測定を試みた(2)。

MLT-30 の標準電極であるゲル付き接觸電極を使用した結果、次のようなことが分かった。

①常緑樹などの厚い葉は、表面のクチクラ層を剥ぎ取らないと測定できない。

②測定開始当初に、電極のなじみ現象と思われる測定値の大きな変化が現れる。

③ゲルの接觸した部分の組織が、時間とともに茶色く変色する。特に草本の葉では組織が溶融する場合もある。

そこでより測定対象に与える影響の少ない電極として、果物などの非破壊品質検査で用いられる、水中非接触電極(1)を使った葉のインピーダンス測定を試みた。

II 測定方法

水中非接触電極とは、何らかの水溶液を満たした水槽の中に、一対の金属電極を一定の間隔を空けて置き、電極の間に測定対象物を入れることでインピーダンスを測定する方法である(図-1)。

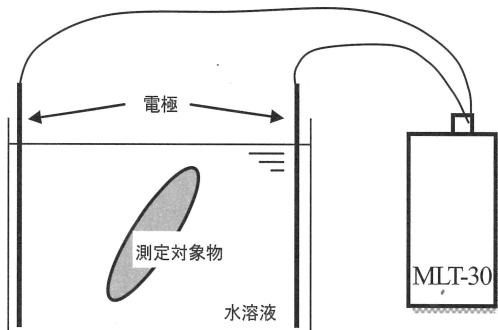


図-1 水中非接触電極によるインピーダンス測定

水溶液としては、適度な導電性を持つものを使用することで、人体測定用の MLT-30 のような低電力インピーダンス測定機の測定可能範囲を広げることができる。予備実験では、KCl 水溶液でマテバシイの葉のクチクラ層の剥ぎ取りをしなくても測定できることを確認した。塩類など電解質水溶液が適しており、非電解質である蔗糖水溶液では測定できなかった。

図-2のような測定用の水槽を試作した。面積が約 84 cm²のステンレス製の電極で、電極間隔を 3cm~12cm で変えられるようにした。KCl 水溶液の濃度および電極間隔を変えて水溶液のみのインピーダンスを測定した結果、濃度が高い程、あるいは電極間隔が短い程インピーダンス値が小さくなることを確認した。人体インピーダンスに近い抵抗(レジスタンス)

値になり、電極間に様々な測定物を挿入しやすくするために、
当初の測定環境としては KCl 濃度を 0.001mol/L、電極間隔を
6~8cm とした。

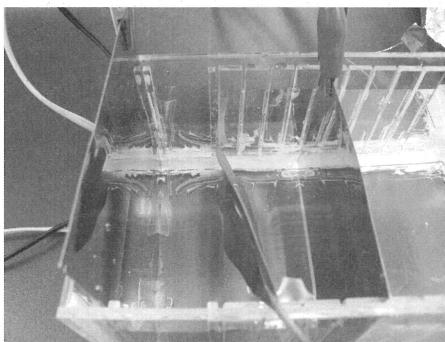


図-2 インピーダンス測定用水槽

インピーダンスの測定時のノイズとして低周波領域で電極インピーダンスが問題になる。電極インピーダンスの除去方法として 4 電極法がある。実際に 4 電極法と 2 電極法で測定結果の比較をし、電極インピーダンスが MLT-30 の周波数帯域では大きなノイズとならないことが分かったので、2 電極法で測定を進めることとした。

測定対象としては、枝から切り取り 1 時間以内のマテバシイ、トウネズミモチ、ムクノキの葉を取り上げてみた。測定結果を図-3 に示す。

複素平面上で対象物の Cole-Cole 円弧が最も明確に現れたのはマテバシイの葉だった。そこで以降はマテバシイの葉を測定対象とした。

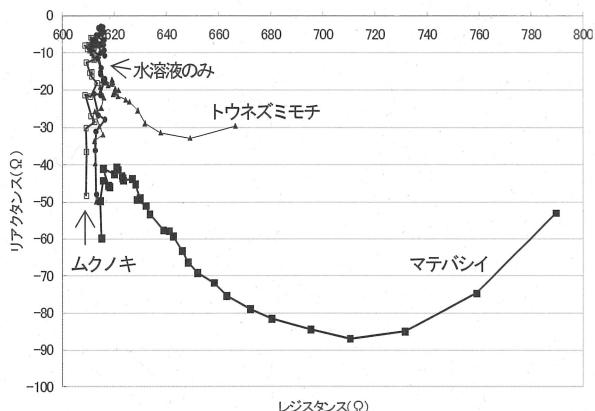


図-3 3種の葉のインピーダンス

III 測定結果

1. 葉の大きさ、枚数とインピーダンス

最初に電極間に挿入する葉の大きさ（葉面積）によりインピーダンスがどのように変化するかを調べた。

異なる面積の葉のインピーダンスを図-4 に示す。

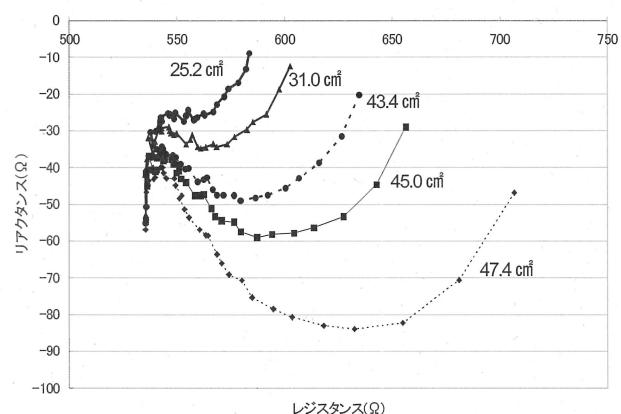


図-4 葉面積と Cole-Cole 曲線

葉組織の等価回路における細胞外液抵抗、細胞内液抵抗、膜容量と、葉面積との関係を、サンプル数を多くして測定した結果を図-5 に示す。

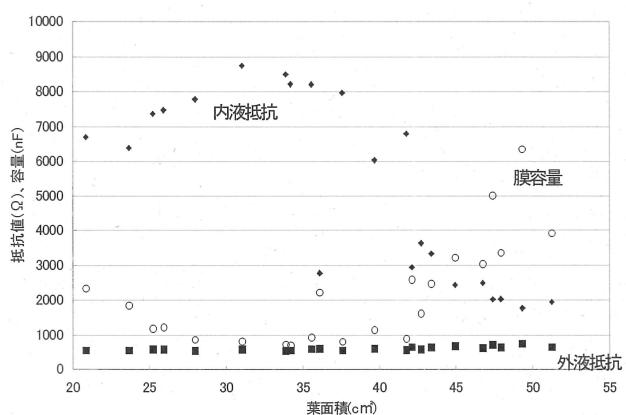


図-5 葉面積と等価回路の抵抗値、容量値の関係

葉面積が大きくなると、低周波域でレジスタンス、リアクタンスとともに大きくなり、Cole-Cole 曲線は明確な円弧を描くようになった。等価回路上の値で見ると、膜容量は 33 cm² 前後を最小値として増減、外液抵抗は微増、内液抵抗は 33 cm² 前後を最大値に増減している。

2. 葉組織の損傷によるインピーダンス値の変化

マテバシイの葉の組織を損傷させることで、インピーダンス値がどのように変化するかを調べた。

2 枚の葉を採取し、全面を金槌で叩いて組織を損傷させてインピーダンスをその前後で測定した。金槌で叩く前後の Cole-Cole 曲線を図-6 に示す。

金槌での損傷後は Cole-Cole 曲線から円弧の部分がなくな

り、水溶液のみの曲線に近づいたことが分かる。

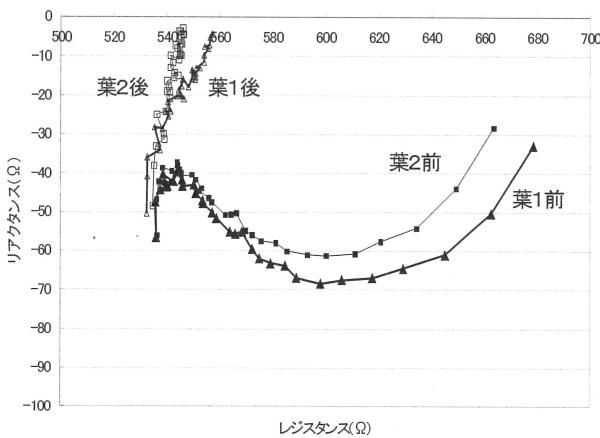


図-6 組織の損傷によるインピーダンスの変化

3. 煮沸による葉のインピーダンス値の変化

次にマテバシイの葉を煮沸することで、インピーダンス値がどのように変化するかを調べた。

一枚の葉を採取し、沸騰するお湯で5分間煮沸した後、常温まで冷ましてからインピーダンスを測定した。煮沸する前後のCole-Cole曲線を図-7に示す。

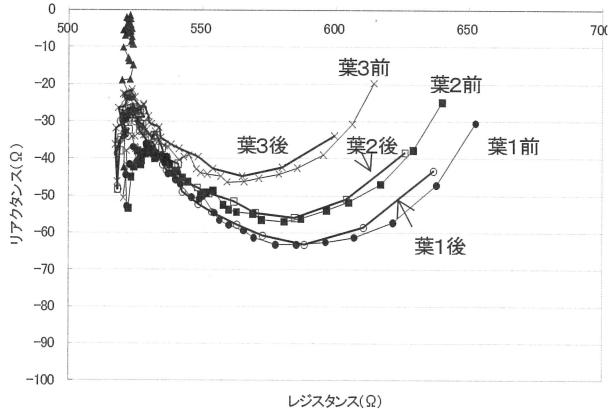


図-7 热湯煮沸によるインピーダンスの変化

煮沸後のCole-Cole曲線は、3枚の葉のいずれも煮沸前とほぼ近似した円弧を描いている。しかし円弧の長さが短くなっている。つまりリアクタンス(Y軸)の最小値を示す周波数(ピーク周波数)fcが低い方にシフトしていることが分かる。MLT-30が内蔵している計算式でfcを求めると、葉1は19.0kHz→10.5kHz、葉2が15.6kHz→9.4kHz、葉3が18.9kHz→10.7kHzといずれも低周波への変化があった。

4. 自然乾燥による葉のインピーダンス値の変化

最後にマテバシイの葉を9日間自然乾燥させることでインピーダンス値がどのように変化するかを調べた。

5枚の葉を採取しインピーダンスを測定後、空調の効いた室内に9日間放置し自然乾燥させた。乾燥後の状態を図-8に示す。

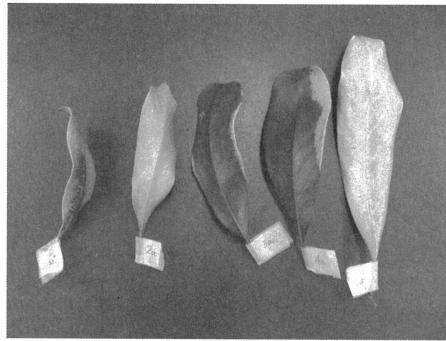


図-8 自然乾燥させた葉

乾燥した葉のインピーダンスを測定すると、Cole-Cole曲線に円弧が現れる場合と現れない場合の2つのパターンがあることが分かった。それぞれの乾燥前後のインピーダンスを図-9、図-10に示す。

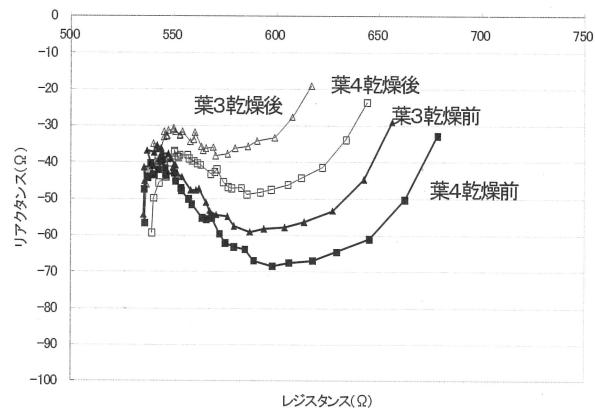


図-9 乾燥後も円弧のある Cole-Cole 曲線

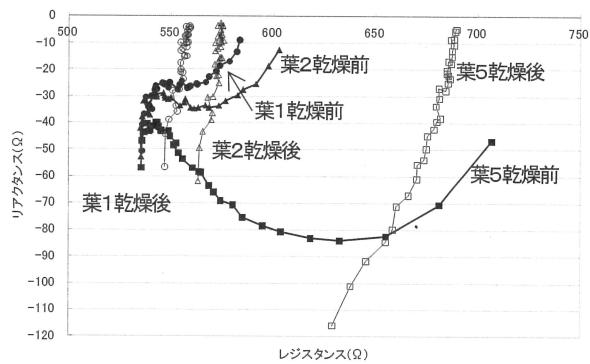


図-10 乾燥後に円弧のない Cole-Cole 曲線

乾燥後も円弧のある Cole-Cole 曲線になったのは、図-8 の左から 3~4 番目の葉（緑色の部分が残った葉）だった。2つともリアクタンスが減少する変化をした。

図-8 で葉の表面が乾燥してほとんど白くなった葉では、Cole-Cole 曲線に円弧は現れなかった。どれも水溶液のみのときの Cole-Cole 曲線を右にシフトした形になった。円弧の大いかった葉ほど、右に大きくシフトした。

IV 考察

1. 葉の形状とインピーダンス

電極の間に挿入する葉の面積によってインピーダンス値が変化すること、さらには MLT-30 の内蔵する計算式で求めた細胞外液抵抗、細胞内液抵抗、膜容量などが変わることも確認できた。しかし面積との関係は、等価回路の電気的解釈と必ずしも一致していない。

野外環境での測定を前提にすると、上記条件を標準化したうえでインピーダンス値を求めるのは難しい。つまり、野外での MLT-30 を用いたインピーダンス測定値は葉面積に依存した値となり、樹木の生理状態をそのまま表してはいない。

従って、1枚の葉についての前後比較や、樹種を特定したうえでの充分なサンプル数を測定した統計的処理の上での比較などで、樹木の生理状態との関係を検討する必要があると言える。

2. 損傷とインピーダンス

等価回路では、細胞膜や細胞壁をコンデンサとして扱っており、機械的に破壊することで絶縁性が失われると想定できる。組織を破壊された葉は、抵抗成分のみになり、Cole-Cole 曲線は周波数に依存しない X 軸上の点で表される。従って水溶液のみの測定結果を左右にシフトした Cole-Cole 曲線になり、従来の知見と一致することが確認できた。

3. 煮沸とインピーダンス

Cole-Cole 曲線のピーク周波数については、果物は損傷、過熟など老化に伴い組織が分解されイオンが増加するとし、ピーク周波数は増加する報告(1)がある。また樹幹の自然乾燥時の測定では、ピーク周波数は数日間は増加したあと減少に転じる報告(5)がある。

今回の 5 枚の葉の煮沸実験においては、Cole-Cole 曲線の位置、形状に変化は少ないが、ピーク周波数は全て減少する結果になった。この理由は今のところ不明である。

4. 乾燥とインピーダンス

乾燥した葉の色の濃い部分と、白くなった部分の断面を電子顕微鏡で観察したところ、濃い部分にのみ細胞構造が保たれていた。つまり、白色化した葉では、乾燥に伴う細胞構造の崩壊が、Cole-Cole 曲線の変形に関係していると推測できる。ちなみに測定時はいずれの葉も 50% 前後の乾燥状態であった。

乾燥に伴う Cole-Cole 曲線の変化は、初めはリアクタンスが減少して円弧が小さくなり、葉面が白色化する頃に円弧は不明となる。水溶液のみの曲線が右にシフトするのは乾燥に伴う抵抗値の増加と考えられる。

5. おわりに

樹木の組織のインピーダンス測定は、まだ研究事例も少なく既存のデータがほとんどない。今回の測定結果の妥当性の評価や、結果の理由を推定するためにも、データの蓄積が必要である。

今後は、測定対象や測定条件を変えて測定を継続し、植物の生理活性度とインピーダンスの関係を明らかにしていきたい。

引用文献

- (1)河野澄夫(2003) 電気インピーダンスによる農水産物の品質評価、食品の非破壊計測ハンドブック
- (2)川端自人ほか(2009) 樹木の葉組織の簡易な装置によるインピーダンス測定. 関東森林研究 60, 141-144.
- (3)高橋伸英ほか(2005) 植物の水分状態と電気インピーダンスの関係. 第 48 回自動制御連合講演会.
- (4)山浦逸雄(2000) 人と植物の新世紀 “電気で植物を測る” と言う試み (中編) 菊水 SAWs. Vol12 .
- (5)山本尚武ほか(1997) 生体インピーダンスを用いた植物の活性評価に関する研究 バイオシステムにおける計測・制御シンポジウム論文集 21/26.
- (6)羅維国ほか(1992) 植物電気インピーダンスの自動測定装置. 電子情報通信学会技術研究報告 23/28:92-146.