

機関番号：22604

研究種目：若手研究 (B)

研究期間：2009 ～ 2010

課題番号：21760317

研究課題名 (和文) 乳濁液中の寄生細菌における誘電泳動特性の評価と分離計測装置の構築

研究課題名 (英文) Investigation of the dielectrophoretic properties of parasitic bacteria in emulsion and construction of new separation and detection systems of bacteria

研究代表者

内田 諭 (Uchida Satoshi)

首都大学東京・大学院理工学研究科・准教授

研究者番号：90305417

研究成果の概要 (和文)：本研究では、乳濁液中の寄生細菌に対する迅速かつ簡便な検出を実現するため、誘電泳動特性の評価と分離計測装置の構築を行った。マイクロセル内の電界分布及び菌泳動速度や軌跡の計算結果から、電極配置を最適化し、油滴との分離条件を見出した。誘電泳動マイクロフィルタと LCR メータと組み合わせることにより、実際に金属加工油希釈液に懸濁した大腸菌、緑膿菌、枯草菌及び黄色ブドウ球菌の分離濃縮と捕集量の推定ができた。

研究成果の概要 (英文)：In the present study, the dielectrophoretic properties of parasitic bacteria in emulsion were investigated, and new separation and measurement apparatus was developed for rapid and simple detection. Optimum electrode arrangement and separation condition from oil droplet were obtained by numerical analyses of electric field distribution in microcell, and dielectrophoretic velocity and trajectory of bacteria. In actual, selective condensation was achieved for various kinds of bacteria. Moreover, the bacterial amount was estimated quantitatively by combination of dielectrophoretic micro filter and LCR meter.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009 年度	1,900,000	570,000	2,470,000
2010 年度	1,300,000	390,000	1,690,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,200,000	960,000	4,160,000

研究分野：工学

科研費の分科・細目：電気電子工学・計測工学

キーワード：計測システム・誘電泳動

1. 研究開始当初の背景

相互不溶である 2 種液体の一方が他方へ細粒状に分散した乳濁系溶剤 (エマルジョン) は、食品や医療品、化粧水、洗浄液や潤滑剤といった現代社会の生活基盤材料として幅広く利用されている。しかしながら、それらの製品において、薬剤耐性を獲得した細菌が寄生繁殖する被害が報告されている。今

後、防腐剤の添加による菌監視行程の省略は難しくなり、製造初期から出荷直前に至るまで継続的に細菌の分離、検出及び除去を行う必要がある。

報告者らは、菌対処用の基本技術として、微細電極間における誘電泳動操作に着目し、細菌の泳動濃縮、電極間インピーダンス変化に基づく細菌の代謝評価、濃縮パルス電界殺

菌に関する研究を行ってきた。成果として、周波数調整による選択的な菌濃縮化、菌群に対する電気定数の導出及び殺菌効率の向上を実現している。一方、使用したマイクロセルの濃縮、計測及び処理部分が一体化していると、連続行程における流速や処理量の制約が大きいこともわかった。また、水中油滴エマルジョンにおける菌泳動特性は、純水系溶液中の特性と大きく異なるため、処理対象に応じた適切な検討が必要であるとの認識も得た。

2. 研究の目的

上記の背景を踏まえて、本研究では、エマルジョン中における菌泳動特性を数値解析及び実測定から詳細に検討するとともに、誘電泳動による輸送操作と濃縮媒質の容量計測を併用した簡易的な菌分離検出システムを構築することを目的としている。

本研究期間内の到達項目は、(1) 電機操作条件 (電圧、周波数及び流量) における菌の誘電泳動速度と軌跡及び体積分率に対する菌濃縮媒質の静電容量の定量化、(2) エマルジョン中の菌泳動における油滴の影響評価、(3) 誘電泳動セパレータとマイクロ流量計の設計製作及び統合システムの最適構成、とした。

3. 研究の方法

本研究課題における研究法の詳細を以下に示す。

(1) 電機操作条件に対する菌泳動特性の基礎解析

本研究では、エマルジョンに寄生する細菌として大腸菌、酵母及びカビを対象とする。初めに、対象菌を構成する細胞小器官の電気定数 (固有誘電率及び導電率) を調査するとともに、Bai らの手法に従って菌を等価誘電体としてモデル化する。次に報告者が開発した粒子挙動解析コードを用いて、純水中におけるマイクロセル内の電界分布及び菌の誘電泳動速度と軌跡を計算する。また、電機操作条件 (電圧、周波数及び流量) に対する特性変化を精査する。なお、エマルジョンを想定した導電率の依存性も検討する。

(2) 誘電泳動セパレータの設計製作及び動作確認

上記の結果をもとにして、使用する極微量シリンジポンプの流速と誘電泳動速度の比から、楔形マイクロ電極アレイに対する最適寸法 (電極幅、間隔及び仰角) を検討する。次に Lin らの試作セルを参考にして電極付きマイクロセルを設計製作するとともに、誘電泳動セパレータとしての基本性能に

ついて純水系菌懸濁液を用いて確認する。

(3) 菌泳動に対する油滴の影響評価及びセパレータの最適化

処理溶液としてエマルジョンを用い、対象菌を懸濁する。菌の誘電泳動速度と軌跡に対する油滴の影響を顕微鏡高速度カメラにて計測するとともに、初期菌濃度及び油滴粒径分布の依存性を泳動速度及び軌跡の変化率から定量化する。これらの結果からエマルジョン中におけるセパレータの最適動作範囲を特定する。

(4) マイクロ容量計の構築及び電気容量の実測

微小ギャップを有する菌濃縮容器を製作し、LCR メータを接続してマイクロ容量計を構成する。本容量計を用いて、各体積分率における菌濃縮媒質の静電容量を計測する。

(5) 統合計測システムの評価及び実応用

誘電泳動セパレータとマイクロ容量計を組み合わせた複合計測装置において電圧、周波数及び流量を変化させて、検量基準を特定する。また実飲料への適用も検討する。

4. 研究成果

(1) に関しては、純水中におけるマイクロセル内の電界分布及び菌の誘電泳動速度と軌跡 (図 1 参照) を運動論に基づいた粒子群の数値シミュレーションにより計算し、電極形状の違いによる電極到達時間を定量化した。

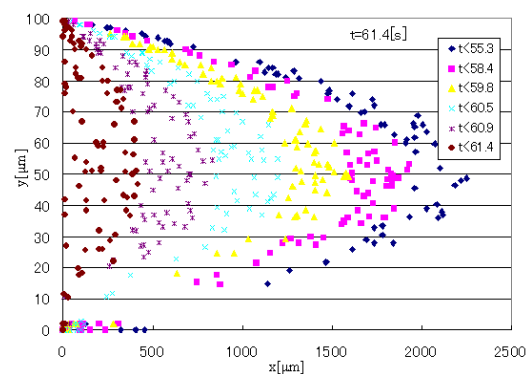


図 1 モデル大腸菌の挙動

(2) に関しては、楔形マイクロ電極 (図 2 参照) を試作するとともに、ポリスチレン微粒子、大腸菌及び酵母の誘電泳動速度を実測した。結果として、電極間隔が 20 μm の場合、仰角 30 度で直径が 10 μm 程度の粒子に対する泳動速度分布を明確に出来ることが実験的に示された。

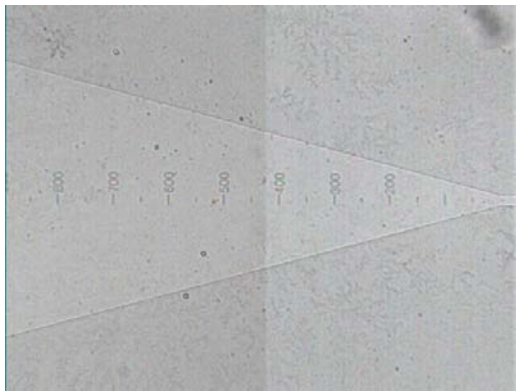


図2 楔型マイクロ電極

(3) に関しては、蛍光染色した大腸菌を乳濁液中へ懸濁させ、各種周波数における泳動状態を観察した(図3参照)。条件によって油滴との分離が可能であることを見出したが、カビ類等へ適用条件についてはさらに詳細な調査が必要である。

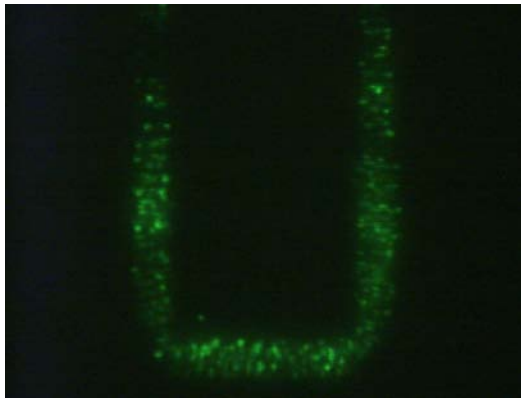


図3 大腸菌の捕集 (10 V, 500 kHz)

(4) に関しては、報告者らがこれまでに開発してきた誘電泳動マイクロフィルタを改造するとともに、簡易の LCR メータと組み合わせることによってマイクロ容量計を実際に構築した。金属加工油希釈液に懸濁した大腸菌、緑膿菌、枯草菌、黄色ブドウ球菌の捕集量を容量増加の実測から推定した。結果として、10 Vpp 程度の電圧振幅でも、 10^5 個/ml オーダーの分離検出が可能であることがわかった。

(5) に関しては、高導電性かつ浮遊物質を有する実飲料について、本手法を一部適用した計測を行った。緑茶の場合は適度な検出度を有することが分かった(図4参照)。しかしながら、ジュースやビールでは不純物や発泡の影響が大きく、計測が困難な状況にあった。汎用性を高めるためには、更なる改善が必要である。

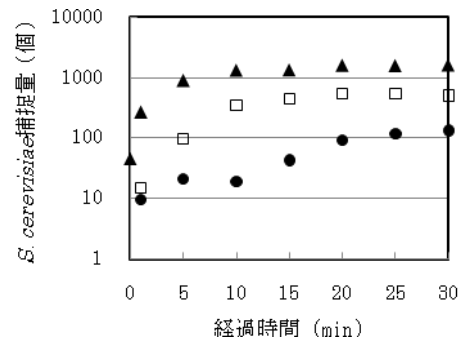


図4 緑茶中酵母の捕集量

なお、本研究の関連成果は、国内学会(静電気学会、電気学会、日本食品工学会)及び国際会議(World Automation Congress)にて発表されている。また、捕集の効率化に対する誘電泳動セル構造の検討については投稿論文(Microelectronic Engineering)としてまとめている。

以上のことから、本研究では当補助金を有効に活用し、到達目標を十分に達成できたと思われる。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計1件)

- ① Y. Shiine, H. Nishikawa, Y. Furuta, K. Kanamitsu, T. Satoh, Y. Ishii, T. Kamiya, R. Nakao and S. Uchida, "Soft-lithographic methods for fabrication of dielectrophoretic devices using molds by proton beam writing", *Microelectronic Engineering*, 査読有, Vol. 87, 2010, pp. 835-838)

[学会発表] (計5件)

- ① 泉 雄太, 内田 諭, 朽久保文嘉, 内山明弘, 「誘電泳動を用いたエマルション中の混入菌に対する分離濃縮」, 平成23年電気学会全国大会, 2011年3月16-18日, 大阪大学(大阪)
- ② S. Uchida, R. Nakao, Y. Shiine and H. Nishikawa, "Optical Counting of Trapped Bacteria in Dielectrophoretic Device with Pillar Array", World Automation Congress 2010, 2010年9月19-23日, 神戸国際会議場(神戸)
- ③ 星野祐太郎, 白井直機, 内田 諭, 朽久保文嘉, 「誘電泳動デバイスの菌捕集特性における電極配置の影響」, 第34回静電

気学会全国大会，2010年9月14-15日，
鳥取大学（鳥取）

（ ）

④ 高瀬亜希，内田 諭，「飲料混入菌の泳動濃縮及び画像計数」，日本食品工学会第11回年次大会，2010年8月4-5日，東京海洋大学（東京）

研究者番号：

⑤ 西村僚太，内田 諭，朽久保文嘉，「微小流路内における細菌の誘電泳動速度計測」，第33回静電気学会全国大会，2009年9月10-11日，東京都市大学（東京）

〔図書〕（計0件）

〔産業財産権〕

○出願状況（計0件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

○取得状況（計0件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

内田 諭 (Uchida Satoshi)
首都大学東京・理工学研究科・准教授
研究者番号：90305417

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者