

# 懸濁液における分散媒の旋光度計測

三井 隆久

## Polarimetry of Dispersion Medium in Suspension

Takahisa MITSUI

We briefly explain the results of our research regarding the polarimetry of dispersion medium in suspension. In polarimetry of dispersion medium in suspension, one inevitably encounters problems due to strong light scattering by the dispersoid. We have performed polarimetry measurements solely of the dispersion medium without the effects of the dispersoid. This was done by selectively detecting only ballistic light amongst multiple scattered light. After reviewing the optical properties of the ballistic light and its method of detection, our polarimetry measurements are explained. We further explain the relevance of our measurements to the measurements of blood glucose levels.

**Key words:** polarimetry, glucose level, laser, heterodyne, ballistic

多重散乱する物体の分光分析はいかにあらるべきか、という問題は生体の非侵襲分光計測を取り組む場合の大きな課題である。分光分析とは、試料に光を照射し、その光が試料によってどの程度変化したかを計測することで試料の性質を計測する方法である。高精度な計測を行うためには、再現性に欠ける要因や雑音源を排除する必要があり、通常行われるような *in vitro* 計測の場合には、精製した試料を用いて分光計測を行う。しかし、たとえば人体のように光を多重散乱する物体を *in vivo* 計測するというような場合には、試料の精製は望めないわけで、そのことが生体の非侵襲計測分野への分光分析の応用を妨げてきた。多重散乱体の計測に関して筆者らが行った研究について、以下で説明させていただく。

### 1. 多重散乱体と弾道光

血液や牛乳などは、光学的に定義すると透明な液体（分散媒）の中に光を強く散乱する物質（分散質）が浮遊している液体であり、懸濁液とよばれる。懸濁液を試料として分光分析を行う場合、懸濁液に照射された光の大半は、分

散質に散乱され伝搬経路を頻繁に変えながら伝搬する。このため、透過光の中には吸光度や旋光度が異なるさまざまな光が含まれ、分散媒の光学的性質の精密な測定は困難である。しかしながら、弾道光とよばれる懸濁液中を最短時間で伝搬する光を多重散乱光と区別して選択的に検出すれば、分散質の影響を受けない分散媒のみの吸光度や旋光度計測が可能になる。

弾道光の選択検出は、主としてパルスレーザーを用いた時間分解計測法により行われている<sup>1)</sup>。パルス光を懸濁液に照射して透過光を観測すると、まずははじめに入射光とほぼ同じ幅の弾道光が現れ、次に幅の広い多重散乱光が現れる。分散質の濃度を上げていけば弾道光の強度が減少するため、弾道光と多重散乱光の区別は難しくなるが、一番はじめに現れる光が弾道光であることに変わりはない。しかし、パルスレーザーを用いた方法は、光源が高価であることに加え光のピーク強度が高いので、人体の計測へ応用する場合には、その危険性が大きな障害となっている。

もう一つの方法は、光ヘテロダイン法を用いた測定である。光ヘテロダイン法は、同一光源から放射された光を

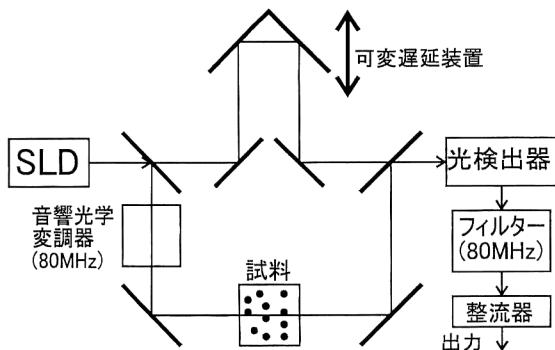


図1 弹道光を観測するためのヘテロダイン干渉計。干渉時間の短い光を光源に用いることにより、試料中を伝搬する光の時間分解計測が可能になる。

ハーフミラーで2つに分け、一方を参照光、他方を信号光として再度両者をハーフミラーで合成し、両者の干渉を求める計測方法である。このような方法で、懸濁液中に入れた物体の鮮明な画像計測<sup>2)</sup>などが成功している。このことから、光ヘテロダイン法を用いて弾道光を選択検出できることは明らかであるが、血糖値計測へ応用する際に問題となるのは、その精度である。どの程度厳密に弾道光と多重散乱光とが区別されるのだろうか。

このことを調べるために、図1に示すような装置で懸濁液を通過した光を調べた<sup>3)</sup>。ここで重要なのは、光源としてスーパールミネセントダイオード（SLD、波長850 nm）を採用したことである。SLD光はレーザー光と同程度の空間的干渉性があるので、容易にヘテロダインビートの測定が行える。一方で、連続発振レーザー光と異なり干渉時間が短く（200 fs程度）、光ヘテロダイン計測を行う場合、参照光と信号光の伝搬時間差が200 fs以内の場合しかヘテロダインビートが観測できない。したがって、参照光の遅延時間を調節することで、試料を透過した光の中に含まれる弾道光と多重散乱光とを伝搬時間の違いで区別して検出できる。

実験結果を図2に示す。試料は水で希釈した脱脂粉乳（図2(a)）と牛乳（図2(b)）である。図2の結果から、懸濁液からの透過光と参照光との干渉時間は、分散質の濃度に依存しないことがわかる。したがって、多重散乱光はまったく検出されず、弾道光のみが厳密に選択検出されているといえる。ところが、同様の実験を固体中に分散質を分散させた場合で行うと、弾道光のほかに多重散乱光も観測される。このようなことから、ヘテロダイン法による弾道光の選択検出には、液体中に分散された分散質のブラウン運動が重要な働きをしていることがわかる。

液体中の分散質のブラウン運動により、分散質に散乱されながら伝搬する多重散乱光の経路は時間とともに変化

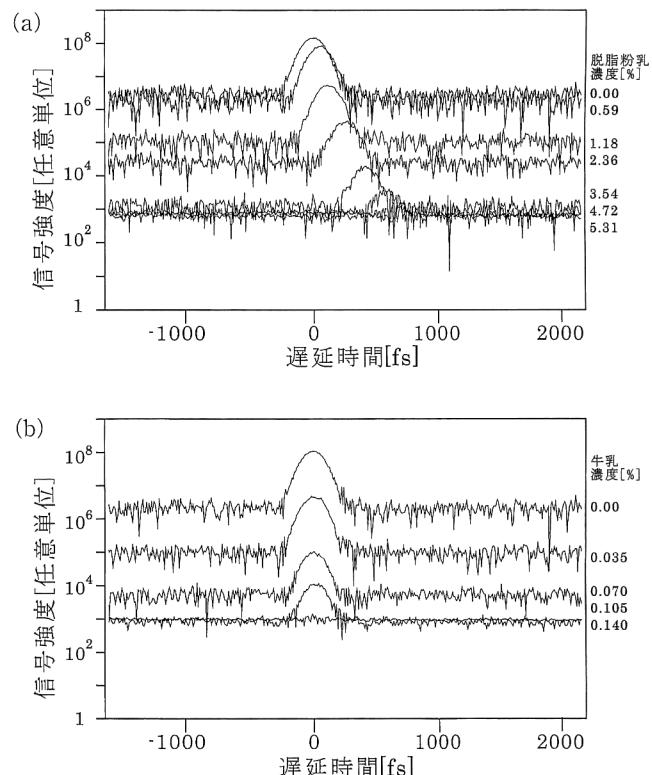


図2 水で希釈した脱脂粉乳(a)と牛乳(b)中を伝搬する弾道光。

し、位相も激しく変化する。一方、弾道光は分散質の隙間を通り抜けるか前方に散乱された光なので、ブラウン運動の影響を受けず、その位相は一定である。したがって、光ヘテロダイン法を用いて懸濁液を透過した光の中から参照光と一定の位相で干渉する成分のみを取り出せば、弾道光が選択検出される。

図2の実験結果でもうひとつ特徴的なことは、脱脂粉乳の濃度を増加させると弾道光の伝搬時間が遅れるが、牛乳の場合には、濃度を増加させても弾道光の伝搬時間が変化しないことである。両者の違いは、SLD光の波長850 nm、脱脂粉乳における主たる分散質は直径30~300 nmのカゼインミセル、牛乳における主たる分散質は直径1~10 μmの脂肪球であることに起因している。実際にミー散乱の理論<sup>4)</sup>を用いてさまざまな直径の誘電体球における前方散乱を計算してみると、波長よりも十分に小さな誘電体球における前方散乱は、光強度の減衰が小さく位相が変化することが導かれる。一方で、波長よりも十分に大きな誘電体球における前方散乱は、誘電体球の幾何学的断面積程度の広がりのある遮光物と同じになることがわかる。したがって、脱脂粉乳の場合の弾道光は散乱体の隙間をくぐり抜けた光と散乱体により前方散乱された光からなり、牛乳の場合の弾道光は、分散質間の隙間をくぐり抜けて伝搬した光からなることがわかる。脱脂粉乳も牛乳もどちらも白いが、弾

道光の伝搬機構は異なる。

## 2. 旋光度計測

グルコースやアミノ酸などの水溶液には旋光性があり、直線偏光は偏光面を回転させながら溶液中を伝搬する。このときの偏光の回転角を測定すれば、溶質濃度に比例した情報が得られる。

旋光度は、溶液により回転した透過光の偏光を、偏光板を回転し光強度が最小になる角度から求める。旋光角が大きな場合には目視でも可能な計測であるが、血液の糖濃度は100 mg/dl程度であり、このときの旋光角は波長850 nmにおいて0.002度/cm程度である。このように微小な角度の計測を行う場合には、測定系内で発生する雑音の解析が不可欠である。

### 2.1 雜音解析

図3(a)に示すような光学系で不可避な雑音は、光検出時に光電流に含まれる散射雑音(shot noise)である。散射雑音( $\Delta I_{\text{sn}}$ )は、光電流を $I_{\text{pc}}$ 、電子の電荷を $q$ 、計測系の帯域幅を $\Delta f$ とおけば、

$$\Delta I_{\text{sn}} = \sqrt{2qI_{\text{pc}}\Delta f} \quad (1)$$

となることが知られている<sup>5)</sup>。散射雑音により旋光計測の精度が制限されている場合の解析を行うと、旋光計の最小検出角 $\Delta\theta$ は、

$$\Delta\theta = \sqrt{\frac{h\nu\Delta f}{2\eta P_s}} \quad (2)$$

となることが導かれる。ここで、 $P_s$ は試料を透過した光の強度(検光子より前方)、 $h$ はプランク定数、 $\nu$ は光の周波数、 $\eta$ は光電変換の量子効率である。 $\Delta f=1\text{ Hz}$ 、 $P_s=1\text{ mW}$ のとき、 $10^{-8}\text{ rad}$ 程度になる。式(2)で与えられる散射雑音限界感度は旋光計測に普遍的であり、図3の計測系に限らず、以下で述べるヘテロダイイン法による旋光計にも当てはまる。フォトダイオードで散射雑音限界感度が達成できる場合には、量子効率の低い( $\eta=0.1$ 程度)光電子増倍管や過剰雑音の多いアバランシェフォトダイオードを用いると、さらに感度が低下する。

散射雑音が計測系の主たる雑音源となるためには、その他の雑音を散射雑音以下にする必要がある。散射雑音以外で最も重要な雑音は、光電流を電圧に変換する際に使用する電流検出抵抗の熱雑音( $\Delta I_{\text{tn}}$ )である。熱雑音は、温度を $T$ 、ボルツマン定数を $k_B$ 、電流検出抵抗の抵抗値を $R$ とすれば、

$$\Delta I_{\text{tn}} = \sqrt{\frac{4k_B T \Delta f}{R}} \quad (3)$$

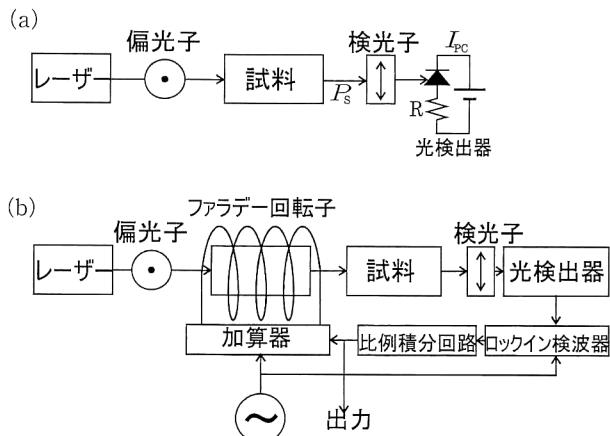


図3 (a) 最も基本的な旋光計の構造、(b) 旋光角を自動的に求められるように改良した旋光計。

となる。したがって、 $\Delta I_{\text{sn}} \gg \Delta I_{\text{tn}}$ となる条件で計測を行う必要があり、このためには $R$ を大きくするか、 $I_{\text{pc}}$ を大きくする必要がある。 $R$ をあまり大きくすると、電子回路の浮遊容量などの影響で計測系の応答速度が遅くなり、後にレーザー光を変調して計測する場合(図3(b))に変調周波数を高くできないという欠点が生じる。 $I_{\text{pc}}$ を大きくすることは、図3の光学系では、偏光子と検光子が直交しているので難しい<sup>6)</sup>。これらの点は、後述するヘテロダイイン法により容易に克服できる。

### 2.2 安定性の向上

実際の計測では、検光子を透過する光強度が最小になる角度を自動的に求めるため、図3(b)のような計測系にしている<sup>7)</sup>。ファラデー回転子に交流磁場を加えることで偏光面を振動させ、ロックイン検波器により光強度の中に含まれる交流成分を検出する。さらに、ロックイン検波出力をファラデー回転子へ負帰還させることで、光強度の中に含まれる交流成分が最小になる角度にロックさせる。このようにした場合、試料の旋光角に比例した負帰還制御信号がファラデー回転子へ供給されるので、この電圧を用いて旋光角の測定を行う。

ファラデー回転子としては、ファラデー効果の大きい専用のガラスを用いてもよいが、旋光角が小さい場合、厚さ5 mm程度の光学ガラスを用いてもよい。また、水溶液の濃度が低い場合、試料のファラデー効果を利用すれば、ファラデーガラスなしで同様の測定ができる<sup>8)</sup>。

### 2.3 ヘテロダイイン法による旋光度計測

筆者らは、図4のようなヘテロダイイン法を用い、試料を透過した光を参照光と比較することで旋光度計測を行った<sup>9)</sup>。ヘテロダイイン法を用いることの利点は、弾道光のみを選択検出するため、散乱媒のみの旋光度計測が可能にな

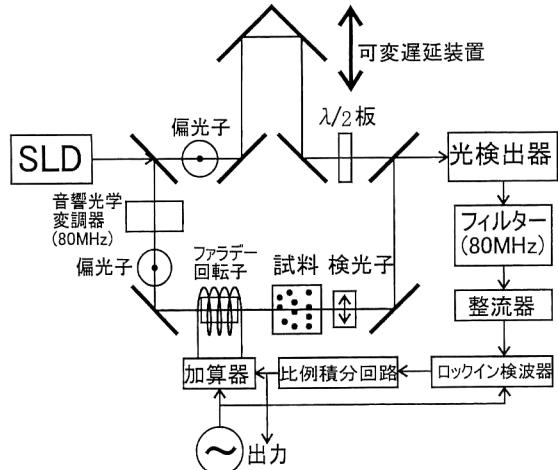


図4 ヘテロダイン法により弾道光のみを選択検出する旋光計。

ることである。また、付随した利点として、散射雑音限界感度が達成しやすいこともあげられる。これは、ヘテロダイン法では、参照光によって発生する散射雑音が電流検出抵抗の熱雑音よりも大きければ、信号光の検出において散射雑音限界感度が達成できるからである。

光源は、光強度1mWのSLDを使用しているが、レーザーでも可能である<sup>10)</sup>。参考アームにおける可変遅延装置は、参照光と信号光の遅延時間が同じになる場所に固定して旋光度計測を行った。

図5(a)は長さ1cmの石英セルにグルコース水溶液を入れて旋光度を計測した結果を示し、図5(b)は散乱体(直径3μmのポリスチレンラテックス、数密度 $8.3 \times 10^8 / \text{cm}^3$ )を含む場合の旋光度計測結果を示す。散乱体を含まない場合、入射光はすべて透過するので光強度が高く、微細な旋光角の計測が可能である。一方、散乱体を含む場合には、弾道光強度が低下するので、微細な旋光角計測ができなくなる。

### 3. 旋光度計測による血糖値計について

上述の旋光度計測実験は、 $10^{-5}$ 度の精度で旋光角の計測を行うことを目的としているので、可能な限り安定な光学系を組んで行われた。具体的には、スーパーインバー合金のプレッドボード、ファインアニールを行ったガラス板、入手可能な範囲で最も安定なミラーマウントなどの使用である。このような努力により、グルコース水溶液においては、 $10^{-5}$ 度の精度で旋光度計測が可能になった<sup>10)</sup>。また、ポリスチレンラテックス等を混入させた場合でも、弾道光の強度で決まる散射雑音限界感度が達成できるようになった。

このような基礎実験をふまえて、生体の非侵襲血糖値計

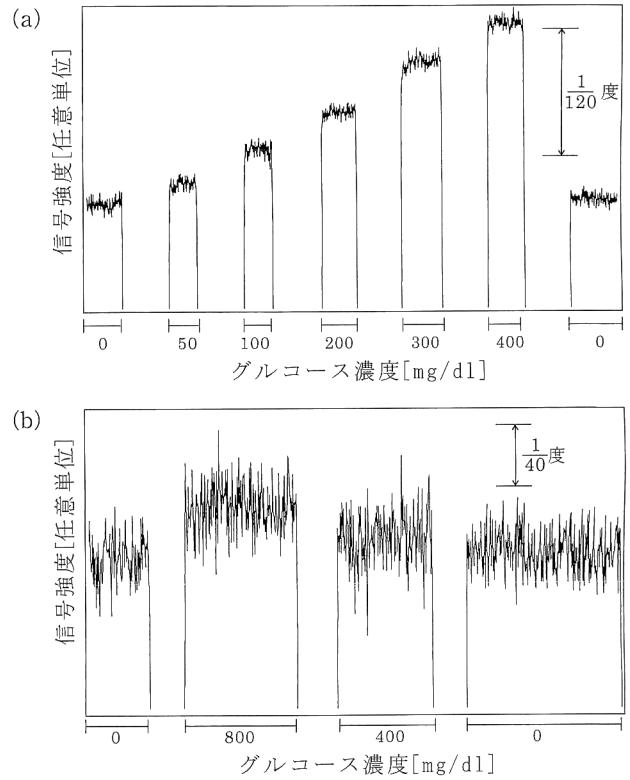


図5 (a) ヘテロダイン法による旋光計を用いて、糖水溶液の旋光角を測定した結果。(b) 懸濁液(ポリスチレンラテックスを水に分散)に糖を混ぜて旋光角を測定した結果。

測として、光学系の中に指を入れ旋光度計測を行おうとしたが、何も観測できなかった。指は光学的にはきわめて不均質であり、光の偏光面を大きく乱す。ファインアニールしたガラス基板を用いなければ精度が達成できないような光学系に生体を直接入れるのは、まったくのナンセンスである。また、希釈した牛乳やポリスチレンラテックスのかわりに血液を用いた測定も試みたが、何も観測できなかつた。図5(b)の測定における分散質濃度は体積比で1%程度であったのに対して、血液における分散質濃度は40%以上ある。このため、血液中を伝搬する弾道光はきわめて弱く、弾道光の観測では微細な旋光角計測はできない。

多重散乱光計測および多波長計測を含むさまざまな努力を行って血液の旋光度計測に成功したとしても、血液中にはアミノ酸やタンパク質など旋光性のある物質が大量に含まれており、糖濃度の推定には困難が伴う。

さて、旋光度計測により血糖値を非侵襲で推定できる可能性が現在もまだ否定されていない唯一の方法は、眼球を利用した計測である。眼球内の糖濃度は血糖値に対して数十分遅れて変化し、血糖値と比較的大きな相関を示す<sup>11,12)</sup>。また、眼球は、光学的には指や耳たぶとは比較にならないほど均一である。したがって、高精度な旋光計測が可能である。

眼球に光を照射する場合、眼球に対して垂直（顔面に垂直）に光を照射して後方反射を測定する場合と、眼球に対してほぼ平行にすれすれに光を照射して反対側に透過してくれる光を計測する方法がある。眼球に対して垂直に光を照射する方法は光CTなどで利用されているが、旋光計測では、反射光の旋光角は透過光の旋光角と逆方向であり、キャンセルされるので用いられない。反射を利用した興味深い計測方法としては、眼球に磁場を加えてファラデー効果を観測する方法が提案されている<sup>13)</sup>。しかし、眼球からの反射光を利用した計測は、透過光が網膜に照射されるので光強度をあまり大きくできないこと、角膜や水晶体の反射率があまり大きくなうことなどにより、光強度が小さく、散射雑音限界感度が低いので実用的とは思えない。

眼球に対してほぼ平行に光を照射して反対側に透過してくれる光を計測する方法は、網膜に光を照射しないので強度の高い光を用いることができ、さらに照射光の大半が透過するので、散射雑音限界感度を十分に高くできる<sup>14,15)</sup>。この方法において知られている技術的な課題は、眼球運動による光路変化と角膜がもつ光学的複屈折である。さまざまな方法でこれらを克服する努力が行われているが、筆者の知る範囲では、血糖値測定のための実用的な計測器には至っていない。

懸濁液における分散媒の旋光度計測について述べた。懸濁液は、分散質が強く光を散乱するため、単純な方法では旋光度を精密に測定することができない。しかし、弾道光とよばれる最短時間で懸濁液中を伝搬する光を選択検出すると、旋光度計測が可能になる。弾道光は、光ヘテロダイン法を用いた干渉計により容易に検出できる。筆者らは、光ヘテロダイン法を用いた旋光計により弾道光を検出する旋光計を製作し、多重散乱体を含む糖水溶液の旋光度の測定を行った。

血糖値計測という観点で旋光計をみると、血液の旋光角が小さい（1cmあたり数百分の1度）にもかかわらず人は光学的に不均質なので、高精度計測が難しいという欠点がある。唯一残された可能性は、眼球を利用した旋光度計測である。

## 文 献

- 1) K. M. Yoo and R. R. Alfano: "Time-resolved coherent and incoherent components of forward light scattering in random media," *Opt. Lett.*, **15** (1990) 320-322.
- 2) K. P. Chan, M. Yamada, B. Devaraj and H. Inaba: "Optical imaging through highly scattering media by use of heterodyne detection in the 1.3-μm wavelength region," *Opt. Lett.*, **20** (1995) 492-494.
- 3) T. Mitsui, H. Numata and K. Sakurai: "Precise azimuth polarimeter using optical heterodyne detection for biological tissues," *The Pacific Rim Conference on Lasers and Electro-Optics* (Chiba, July 10-14, 1995).
- 4) V. Hulst: *Light Scattering by Small Particles* (Dover, New York, 1957).
- 5) 桜井捷海、霜田光一：応用エレクトロニクス（裳袈房、1984）p. 230.
- 6) R. Cameron, G. Cantatore, A. C. Melissinos, G. Ruoso, Y. Semertzidis, H. J. Halama, D. M. Lazarus, A. G. Prodell, F. Nezrick, C. Rizzo and E. Zavattini: "Search for nearly massless, weakly coupled particles by optical techniques," *Phys. Rev. D*, **47** (1993) 3707-3725.
- 7) E. J. Gillham: "A high-precision photoelectric polarimeter," *J. Sci. Instrum.*, **34** (1957) 435-439.
- 8) T. Mitsui, T. Kinugawa and K. Sakurai: "A new polarimeter for dilute aqueous solutions: The improved null-method compensation for the optical rotatory power by the Faraday effect of a sample," *Jpn. J. Appl. Phys.*, **38** (1999) 2152-2154.
- 9) T. Mitsui and K. Sakurai: "Precise measurement of the refractive index and optical rotatory power of a suspension by a delayed optical heterodyne technique," *Appl. Opt.*, **35** (1996) 2253-2258.
- 10) T. Mitsui and K. Sakurai: "Microdegree azimuth polarimeter using optical heterodyne detection," *Jpn. J. Appl. Phys.*, **35** (1996) 4844-4847.
- 11) S. Pohjola: "The glucose content of the aqueous humor in man," *Acta Ophthalmol. Munksgaard, Suppl.* 88 (1966) 11-80.
- 12) W. F. March, B. Rabinovitch and R. L. Adams: "Noninvasive glucose monitoring of the aqueous humor of the eye: Animal studies and the scleral lens," *Diabetes Care*, **5** (1982) 259-265.
- 13) S. Jang and M. D. Fox: "Optical sensor using the magnetic Optical rotatory effect of glucose," *IEEE-LEOS Newslett.*, **12** (1998) 27-29.
- 14) C. Chou, C. Han, W. Kuo, Y. Huang, C. Feng and J. Shyu: "Noninvasive glucose monitoring *in vivo* with an optical heterodyne polarimeter," *Appl. Opt.*, **37** (1998) 3553-3557.
- 15) R. J. McNichols and G. L. Coté: "Optical glucose sensing in biological fluids: An overview," *J. Biomed. Opt.*, **5** (2000) 5-16.

(2004年2月13日受理)