

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 12 日現在

機関番号：12602

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2012～2014

課題番号：24650078

研究課題名(和文)匂い情報(揮発性成分)の3次元可視化システム

研究課題名(英文)3D-imaging system for odor chemicals (volatile compounds)

研究代表者

三林 浩二 (Mitsubayashi, Kohji)

東京医科歯科大学・生体材料工学研究所・教授

研究者番号：40307236

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：本課題の目的は、空間中の匂い成分を3次元での動画像とする可視化システムを開発することである。実験では酵素ミスト発生装置を用い、高感度CCDを利用することで、過酸化水素の気相系での発光を確認し、さらにエタノールガスについても時間的・空間的な濃度変化を可視化動画として捉えることに成功した。酵素固定化した磁性化ビーズでの可視化では、固定化法およびビーズサイズの適正化が必要であることが見出された。

研究成果の概要(英文)：The objective of the research topic is to construct a novel of 3D-imaging system for odor chemicals (Volatile Compounds). By applying an enzyme-mist vaporizer and a high sensitive CCD camera, hydrogen peroxide could be visualized in the gas phase. And the system also succeeded to make a spatial-temporal imaging of ethanol vapor. In the future, an application of magnetic beads (suitable size) for the enzyme immobilization is considered to be one of the key technologies for a repetition imaging approach.

研究分野：総合領域

キーワード：匂い情報 可視化 3次元

### 1. 研究開始当初の背景

近年、半導体型ガスセンサや QCM 素子を使った人工嗅覚の研究が盛んに進められ、生体臭の検知や食品の匂い計測、危険物の検知などに応用されている。またこの分野のバイオニアである東工大の森泉・中本らは、複数のセンサを 2 次元または 3 次元的に配置に、匂いの可視化技術を提案している。

一方、申請者らは酵素や抗体などの生体認識素子を利用し、多様な生化学式ガスセンサを開発し、匂いの情報化研究を進めてきた。そして申請者らが開発した「匂い情報の光情報（蛍光、発光）への変換技術」をもとに、酵素を 2 次元メッシュとして固定化することで、空間中に広がる匂い成分を 2 次元（面）に可視化することに成功した。

本手法を利用することで、口腔から発する揮発成分（エタノール）をリアルタイムに 2 次元可視化でき、その動画像情報を解析し、呼気中に含まれる濃度の計測があることを見出した。さらに精細な匂い情報の可視化には 3 次元（空間）動画像が不可欠で、3 次元可視化が可能となれば、匂いの時間的・空間的な分布にのみならず、匂いの発生源の特定が可能となることから、口臭の発生源（虫歯 or 舌、扁桃など）の診断や、青果物の非破壊での熟成分布評価、環境での大気汚染の発生源の特定などへの利用が考えられる。

そこで申請者は最新のミスト発生技術を利用することで、これまで多孔質膜やメッシュ担体に固定化していた酵素を、酵素ミストとして空間に均一に滞留させ、任意の空間にて匂い成分を発光や蛍光として検出し、その広がりを動画像として観察できると考えるに至った。

申請者らはすでに液相系にて、匂い成分であるアルコールやメチルメルカプタン、トリメチルアミン、ジメチルサルファイド等を発光にて、アセトアルデヒドやホルムアルデヒド等が蛍光にて検出できることを確認している。そこでまず、社会的なニーズの高いエタノールガスについて、酵素ミスト発生装置を用いて、既存設備である高感度 CCD カメラと組み合わせることで、気相系での発光現象を確認する。さらにアルコールガスの気相系での 3 次元（空間）可視化を達成する。

また高額な酵素をミストとして浪費するのではなく、酵素を回収可能にする磁性化酵素ミスト作製装置を検討し、酵素の再利用が可能な、汎用性の高い可視化システムとして、世界に先駆け完成させる。また同時に医療診断にも有効なメチルメルカプタン、トリメチルアミン等の画像化にも酵素を選出して取り組む。

これまで匂い成分の可視化は、申請者が報告した 2 次元（面）動画像以外にはほとんど報告が無く、より精緻な 3 次元（空間）での可視化計測が可能となれば、人をはじめ生物から発せられる臭いや、料理などの食品からの匂い、植物の香りなどを画像として表現で

きる。

もちろんシックハウス症候群を誘発するホルムアルデヒドのような VOC（揮発性有機化合物）等の有害ガスも可視化することができ、ガスの分布のみならず発生源の特定も可能となり、健康環境の創生に役立つ。また将来においては、生体臭による非侵襲的な医療診断（匂いバイオイメージング）へと展開する。

### 2. 研究の目的

申請者はこれまでに、空間内に酵素固定化メッシュを配置し、酵素による触媒反応を介して、匂い成分を光情報に変換し、CCD カメラで画像化することで、世界に先駆けて「2 次元（面）での匂いの可視化」を実現した。そして飲酒後の呼気中エタノールの可視化に成功し、匂いの可視化の有用性を示すと共に、さらに進化した「3 次元（空間）での可視化」の必要性を把握した。

そこで本申請では、空間での滞留性に優れたミストの発生が可能な「酵素ミスト発生装置」を導入し、高感度 CCD カメラと組み合わせることで、空間中の匂い成分を 3 次元での動画像とする可視化システムを開発する。さらに酵素を磁性化ビーズに固定化しミスト化することで、高額な酵素を再利用できる可視化方法を開発する。これにより、「住環境汚染物質の可視化」や「食品臭の香り画像化」、将来の「生体臭診断」へと展開できると共に、匂い情報を融合した「新たな情報化社会」を創生する。

### 3. 研究の方法

24 年度の実験ではエタノールガスの気相系での 3 次元での発光現象を確認するため、まず過酸化水素ガスに対するルミノール発光を、既存設備である高感度 CCD カメラにて観察した。実験では簡易型の酵素ミスト発生装置を導入し、「ルミノール試薬とペルオキシダーゼの酵素溶液」を発生装置内のタンクに充填し、酵素ミストを発生させ、暗室ブース内のミスト容器に均一に滞留させた。次に別途、外部ノズルより過酸化水素水をガス状に噴霧し、この時に発生する青色発光を暗室ブース内に設置した高感度 CCD カメラにて検出した。次に同様なシステムを使って、空間中のエタノールガスのルミノール発光を検出する実験を行った。

また 25 年度は高感度な EM-CCD カメラを用いて、局所廃棄ベンチ内に外部光を遮断する暗室ブースを設け、先の酵素ミスト発生装置を組み込むことで、高感度な 3 次元可視化システムの構築を進めた。

最終年度の 26 年度は更に高感度な EM-CCD カメラを用いて、局所廃棄ベンチ内に外部光を遮断する暗室ブースを設け、先の酵素ミスト発生装置を組み込むことで、高感度な 3 次元可視化システムの構築を行った。

#### 4. 研究成果

24年度は濃度の異なる過酸化水素溶液を噴霧し、発光出力の変化を調べたところ、過酸化水素ガス濃度に応じた3次元可視化の動画が観察され、発光出力と濃度に相関性が観察された。エタノールガスの発光では、「ルミノールとHRPに加えて、アルコール酸化酵素を含む酵素溶液」を用いて酵素ミストを発生し、ミスト容器内に滞留させた。高濃度のエタノールガスをミスト容器内に負荷し、その際の青色発光を高感度CCDカメラにて検出し、エタノールガスによる発光現象を確認することができた。

24年度では匂い成分の空間中での発光現象の観察を目標に、簡易型の酵素ミスト発生装置を導入し、まず予備実験としてガス状の過酸化水素の気相系での発光を確認し、その後空間中に存在するエタノールガスの発光現象を高感度CCDカメラで捉えることに成功した。

次に25年度は酵素ミスト発生装置より酵素ミストをミスト容器に流入・滞留させ、標準ガス発生装置(Permeator PD-1B、ガステック社)よりエタノールガスを負荷したところ、EM-CCDカメラを用いて、エタノールガスの時間的・空間的な濃度変化を3次元で可視化動画として画像することが可能であった。しかし、そのエタノールガス濃度分布の変化を大まかに捉えることは可能であるものの、その濃度分布の変動割合が大きく、且つ高速に変動することから、その濃度変化を十分に捉えることができず、濃度を定量するには至らなかった。

さらに26年度では、酵素ミスト発生装置より酵素ミストをミスト容器に流入・滞留させ、標準ガス発生装置よりエタノールガスを負荷したところ、EM-CCDカメラを用いて、エタノールガスの時間的・空間的な濃度変化を3次元で発光画像として可視化動画として画像化することに成功した。

次に酵素を磁性化ビーズに固定化しミスト化を実施した。まず外径が2.8 $\mu$ mの磁性ビーズを用いて行った結果、タンパク質を磁性ビーズに固定化することに成功した。しかしながら、3次元での発光の強度は微弱で、磁性ビーズの早い沈降速度において、その濃度変化を画像として捉えることはできなかった。

以上、本課題では酵素ミスト発生装置を用い、高感度なEM-CCDカメラを利用することで、過酸化水素の気相系での発光を確認し、さらにエタノールガスについても時間的・空間的な濃度変化を3次元で可視化動画として捉えることは可能であった。酵素固定化した磁性化ビーズでの3D可視化では、固定化法の最適化およびビーズサイズの適正化が必要であることが示された。

#### 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 4件)(全て査読あり)

Takahiro Arakawa, Kenta Iitani, Xin Wang, Takumi Kajiro, Koji Toma, Kazuyoshi Yano, Kohji Mitsubayashi, A sniffer-camera for imaging of ethanol vaporization from wine: the effect of wine glass shape, *Analyst*, 2015, 140, 2881-2886, 2015. DOI: 10.1039/c4an02390k

Arakawa T., Wang X, Kajiro K, Miyajima K., Takeuchi S, Kudo H., Yano K, Mitsubayashi K., A direct gaseous ethanol imaging system for analysis of alcohol metabolism from exhaled breath, *Sensors and Actuators B: Chemical*, 186, 27-33, 2013. DOI: 10.1016/j.snb.2013.05.071

Arakawa T., Ando E, Wang X, Miyajima K., Takeuchi S, Kudo H., Saito H, Takahashi M, Mitani T, Mitsubayashi K., Chemiluminescent visualization for evaluation of gaseous ethanol distribution during 'La France' pear maturation, *IEEE Sensors Journal*, vol. 13, No. 8, 2842-2848, 2013. DOI: 10.1109/JSEN.2013.2257740

Takahiro Arakawa, Eri Ando, Xin Wang, Miyajima Kumiko, Hiroyuki Kudo, Hirokazu Saito, Tomoyo Mitani, Mitsuo Takahashi, Kohji Mitsubayashi, A highly sensitive and temporal visualization system for gaseous ethanol with chemiluminescence enhancer, *Luminescence*, 27, 2012, 328-333. DOI: 10.1002/bio.1352

[学会発表](計 5件)

Mitsubayashi K (Invited), Cavitas sensors and Smell camera for human biosensing, The UK-Japan Workshop on Biosensing Technologies for the Innovative Healthcare, Tokyo, Japan, December 1-2, 2014.

三林浩二(招待). バイオセンサ技術を用いた気相成分モニタリングと応用研究～新たな空気質のモニタリング技術として～, 第285回クリーンテクノロジー研究会, 主催: 日本空気清浄協会, 東京, 2014年10月1日.

Arakawa T., Wang X, Kita K, Miyajima K., Munkhjargal M., Mitsubayashi K., Gaseous ethanol imaging system for real-time alcohol analysis using emission of human breath and body, 8th International Conference on Instrumental Methods of Analysis Modern Trends and Applications (IMA 2013), Thessaloniki, Greece,

September 15-19, 2013.

三林浩二(招待)、「S23-5 匂い成分の可視化モニタリング」<sub>1</sub>、セッション 23: 化学空間の可視化センシング、平成 25 年電気学会全国大会 (創立 125 周年記念大会)、日時: 平成 25 年 3 月 20 日(水)、会場: 名古屋大学 ES034 会場  
齋藤幸仁, 平松秀夫, 王昕, 宮島久美子, 荒川貴博, 工藤寛之, 三林浩二, 生体触媒を利用したエタノールガスの可視化計測システムに関する研究, 第 24 回 S A S インテリジェントシンポジウム, 2012 年 11 月 15 日 ~ 16 日, 神奈川県平塚市.

〔図書〕(計 1 件)

三林浩二、分筆「匂い成分のバイオセンシングと可視化モニタリング」<sub>1</sub>、「嗅覚と匂い・香りの産業利用最前線」<sub>1</sub>、株式会社 N T S、2013 年 2 月

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

取得状況 (計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.tmd.ac.jp/i-mde/www/inst/inst-j.html>

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

三林 浩二 (MITSUBAYASHI, Kohji)  
東京医科歯科大学・生体材料工学研究所・教授  
研究者番号: 40307236

### (2) 研究分担者

工藤 寛之 (KUDO, Hiroyuki)  
東京医科歯科大学・生体材料工学研究所・准教授  
研究者番号: 70329118

(H24 まで分担)

荒川 貴博 (ARAKAWA, Takahiro)  
東京医科歯科大学・生体材料工学研究所・助教 (H24) 講師 (H25-26)  
研究者番号: 50409637

宮島 久美子 (MIYAJIMA, Kumiko)  
東京医科歯科大学・生体材料工学研究所・技術職員  
研究者番号: 10516298

(H25 まで分担)