

平成 27 年 5 月 27 日現在

機関番号：14101

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2013～2014

課題番号：25630375

研究課題名(和文) 曲げた光ファイバを用いる屈折率計測とそのバイオ・ケミカル・分光センサ化への挑戦

研究課題名(英文) Development of new optical sensing sensor using bent optical fiber

研究代表者

末原 憲一郎 (SUEHARA, Ken-ichiro)

三重大学・生物資源学研究科・准教授

研究者番号：70291614

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：曲げた光ファイバを用いた光センシング手法の開発を目的に、基本性能評価とバイオケミカルセンサとしての応用および分光センサ開発への挑戦を行った。糖・塩水溶液を用いた試験の結果、分光計測で重要なランバートベールの法則に準じた情報取得ができていることがわかった。つぎに、経時的な反応を伴う複雑系かつ希薄糖・塩混合系である植物細胞培養系について、実用的な測定が可能なセンサ回路を作成したところ、バイオケミカルセンサとしての性能も担保できることがわかった。最後に、色素溶液を用いて分光スペクトル情報の取得可能性も示された。提案する曲げた光ファイバを用いる光センシング手法の応用可能性が示された。

研究成果の概要(英文)：To develop the new optical sensing tool using bent optical fiber, we tested the basic performance as the optical sensor. The attenuation ratio through into the bent fiber between reference materials (air or water) and the sample solution was measured. As the result, this sensor can be obtained about the information in conformity with Lambert-Beer's law because the logarithmic attenuation ratio is proportion to the percent concentration of mass of the solution. Next, we applied to measure the bio-chemical reaction and kinetic behavior of the sugar uptake phenomena of a suspension of Arabidopsis cells was detected using this sensor system by amplifying the output by an differential amplifier electronic circuit. The spectrum information of the aqueous solution of the pigments can be also acquired. The great potential of the application possibility of the sensor was provided.

研究分野：生物化学工学

キーワード：光センシング 光ファイバ バイオプロセス センサ

1. 研究開始当初の背景

光を効率よく伝搬するものに光ファイバがある。光ファイバをセンサに用いる研究はいくつか知られており、ひずみセンサや切断面に金などを蒸着したSPR様センサなどが挙げられるが、入射光と反射光が混在した状態で情報取得に複雑な信号処理が必要になる。一方、我々は光ファイバをある曲率以上に曲げただけのセンサシステムを提唱し、物質界面センサとして応用してきた。本課題では、提唱するセンサシステムの基本性能を明らかにし、生物反応を伴う場で光センシングに応用するとともに、スペクトル計測への挑戦を行うことで、本センサシステムの応用拡大を目指す。

2. 研究の目的

光を用いた計測手法（光センシング）は、迅速かつ非破壊的に生体関連物質の多成分同時計測ができる半面、特定の物質に対する測定精度はあまり良くない。しかし、様々なエネルギー（波長）の光を用いて得られるスペクトルには、原理的にその場に関わる全ての物質の情報を含む（光指紋情報）ことから、分離分析を主とする化学分析にはない特徴が生まれる。われわれは、曲げた光ファイバに注目し、これを光センシングプローブとして用いる着想に至った。しかし、曲げた光ファイバの先端から漏出する光量が接触する物質の性質に依存する現象は既知であるものの、そのプローブ（センサ）としての性能や可能性は未知である。本研究では、以下の研究課題を設定した。

- ①曲げた光ファイバ部の形状再現性の問題を解決する基本性能試験
- ②光の減衰率と水溶液の溶質濃度との関係を明らかにする基本性能試験
- ③バイオケミカルセンサとしての性能確保とそのプロセス計測（経時的変化を伴う反応系）への応用（可能性のある挑戦的課題）
- ④スペクトル測定（逆ATR法）への挑戦

食品の赤外分光計測に良く用いられる手法のひとつに全反射減衰（ATR）法があり、主に据え置き型の分光器にてサンプルを測定する。④はかなり挑戦的な課題であるが、これを投げ込み型にできればプロセス計測をはじめ様々な用途への拡大が期待できる。

3. 研究の方法

(1)実験試料

実験試料として単純な食品モデルとして糖水溶液、塩水溶液、さらにこれらを混合した糖-塩水溶液を用いた。糖と塩にはスクロースと塩化ナトリウム（共に和光純薬工業社製の試薬特級）を採用した。試料調製値の詳細を表1および表2に示す。

表1 スクロース糖水溶液の試料調製値

モル濃度 [mol/L]	質量	溶液		
	百分率 [wt%]	密度 [g/cm ³]	Brix%	factor
0.125	4.2	1.01	4.2	0.9689
0.250	8.3	1.03	8.3	0.9425
0.375	12.3	1.04	12.3	0.9159
0.500	16.1	1.06	16.1	0.8901

また、反応を伴って糖濃度が変化する試料として、アラビドプシス細胞をスクロースで13日間培養し、経時的にサンプリングすることで、複雑系かつ反応に伴って糖濃度が変化する試料とした。曲げた光ファイバセンサによる光量減衰率の測定とともに、対照として平成20～22年度基盤研究C(20560729)にて開発した赤外分光法による糖濃度・糖消費速度計測を行った。

様式 C-19、F-19、Z-19 (共通)

表2 糖-塩水溶液

試料名	Suc モル濃度 [mol/L]	NaCl モル濃度 [mol/L]	Suc 質量百分率 [wt%]	NaCl 質量百分率 [wt%]	溶液密度 [g/cm ³]	Brix%	電気伝導度 [s/m]	factor
Suc+NaCl	0.000	0.50	0.0	2.9	1.00	3.6	4.39	0.9861
	0.000	1.00	0.0	5.6	1.02	6.7	7.70	0.9774
	0.000	2.00	0.0	10.9	1.04	12.7	13.17	0.9562
	0.000	4.00	0.0	20.4	1.07	23.1	19.51	0.9134
	0.125	0.50	4.1	2.9	1.15	7.7	3.98	0.9604
	0.125	1.00	4.1	5.6	1.01	10.7	7.10	0.9512
	0.125	2.00	3.9	10.7	1.03	16.4	11.96	0.9312
	0.125	4.00	3.7	20.1	1.05	26.5	17.90	0.8865
	0.250	0.50	8.2	2.8	1.09	11.5	3.75	0.9327
	0.250	1.00	8.0	5.5	1.16	14.5	6.74	0.9238
	0.250	2.00	7.7	10.6	1.03	20.0	11.34	0.9038
	0.250	4.00	7.3	19.8	1.05	29.8	16.44	0.8590
	0.375	0.50	12.1	2.8	1.07	15.4	3.43	0.9065
	0.375	1.00	11.8	5.4	1.11	18.3	6.10	0.8968
	0.375	2.00	11.5	10.4	1.18	23.6	10.20	0.8759
	0.375	4.00	10.8	19.6	1.04	33.0	14.80	0.8314
	0.500	0.50	4.1	2.9	1.06	19.2	3.13	0.8806
	0.500	1.00	4.1	5.6	1.08	21.9	5.52	0.8708
	0.500	2.00	3.9	10.7	1.12	27.0	9.29	0.8492
	0.500	4.00	3.7	20.1	1.19	36.1	13.32	0.8057
Water					1.06	0.0	0.06 × 10 ⁻³	

(2) 実験装置

本研究にて設計・構築した実験装置の外観と概略図を図1に示す。光源（浜松ホトニクス社製 L10671）と分光器（浜松ホトニクス社製 C10083CAH, C11118GA）を、石英製光ファイバを介して曲げたプラスチック製光ファイバ（三菱レイヨン社製 SK60, CK120）に接続した。

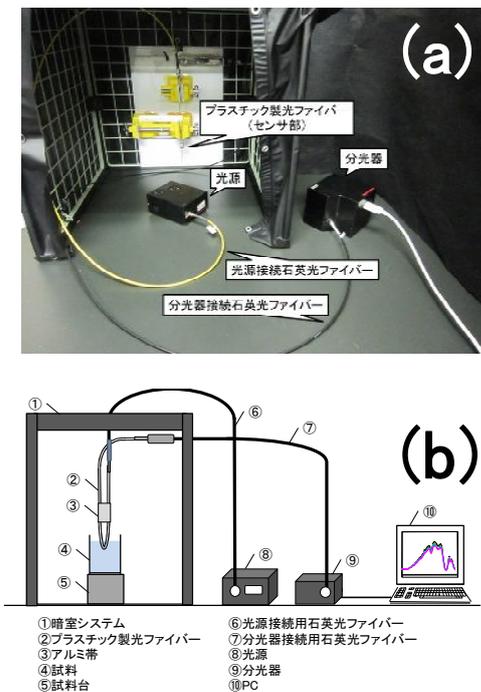


図1 実験装置外観 (a) と概略図 (b)

4. 研究成果

(1) 基本性能試験

① 装置安定性

光源・分光器の電源投入後の出力安定性を調べるため、経時的にスペクトルを測定した(図2a)。いくつかのピーク値について時間変化をプロットした結果、電源投入後約3時間程度で出力(b)や温度(c)が安定することがわかった。(図2b, c)。

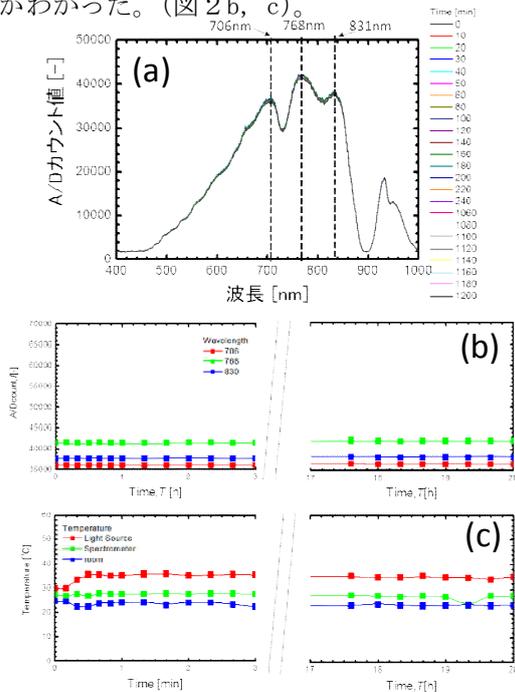


図2 光源・分光器の電源投入時からの出力特性変化

②ファイバ先端形状安定性

ファイバの曲げ幅を 20-3 mm の範囲で変え、空気に対する水の光量減衰率を調べた。ファイバ先端に異なる物質が接触すると、ファイバを透過する光量に変化することが確認できた (図 3 a, b)。また、曲げ幅と減衰率 (707 nm) の関係を図 3c に示した。曲げ幅 20 mm ではほとんど減衰せず、8 mm 以下から急激に減衰率が大きくなった。本研究では、光の減衰が大きい 5 mm 幅を最適値と決定した。

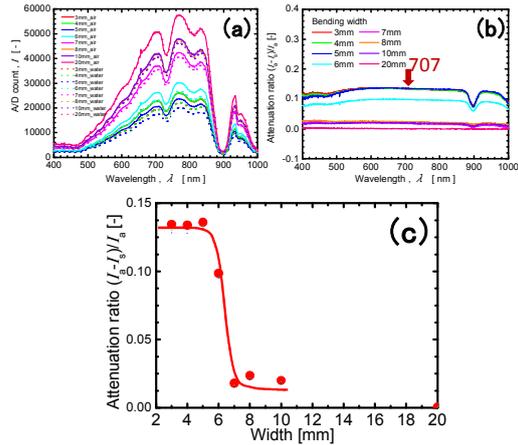


図 3 曲げ幅を変えた時の空気基準の水の減衰率変化

③ファイバ断面（接合部）の加工法

本研究課題で提案するセンサシステムは構造が非常に単純であり、光ファイバを手軽にセンサ部が加工成形できる。しかしそれは、加工成形したときの性状が不安定になる可能性をもっている。実際に、ファイバ両端を研磨したにも関わらず、複数本切り出した際にかかなりのバラツキが観察された (図 4 a)。そこで、スペクトル強度を観察しながら両端を研磨する工程 (ノウハウとして公開せず) を決定した結果、バラツキを抑えた加工ができた (図 4 b)。さらに 3D プリンタで曲げたファイバを固定する部品を作成することで、安定したセンサ部を構築することに成功した。

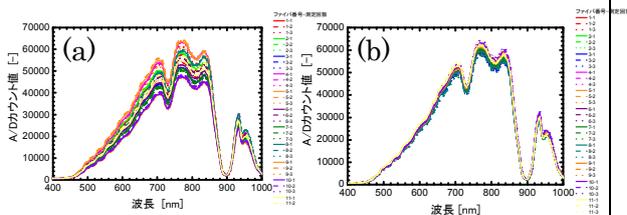


図 4 加工法決定前後のセンサバラツキ

(2) 糖 - 塩水溶液系の計測

糖水溶液、塩水溶液、およびそれらを混合させた糖-塩水溶液を用いて、質量百分率濃度、Brix% および密度に対する光の減衰率変化の関係を調べた。

糖水溶液において、水溶液中の溶質 (スクロース) 量の増加に伴って光の減衰率は増加した (図 5)。また、塩水溶液においても同様であった (データ示さず)。曲げた光ファイバを用いて光の減衰量を測定することで、溶質量に応じた光の減衰が確認できたことから、溶液中の物質濃度の測定の可能性が示された。

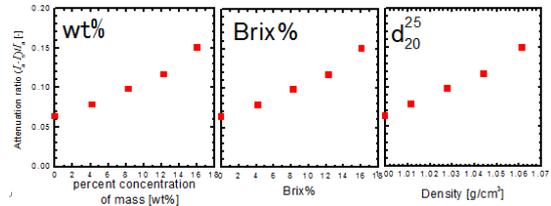


図 5 糖水溶液における計測結果

つぎに、糖-塩水溶液についての測定結果を図 6 に示す。糖に着目した場合、溶質量 (質量百分率濃度) に対する曲げた光ファイバの光の減衰率は、総じて指数関数的な変化をしているものと思われる。そこで、減衰率の対数値を計算し、糖または塩の質量百分率濃度に対する関係をプロットした (図 7)。減衰率の対数値は、溶質濃度と直線関係となった。すなわち、ランバートベールの法則に則った現象が観察された。したがって、曲げた光ファイバによって得られる光の減衰率は分光計測における光の透過率に相当すること、また本法は光計測手法の原理原則に則ったデータが得られる計測手法であるといえる。

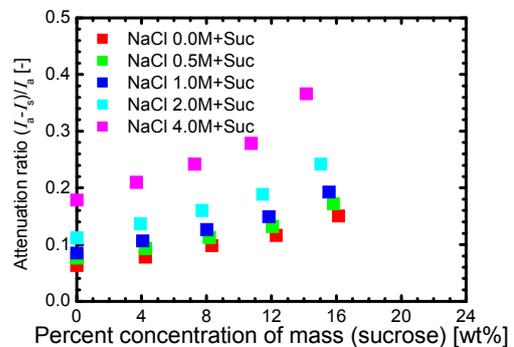


図 6 糖 - 塩水溶液における溶質組成と減衰率の関係

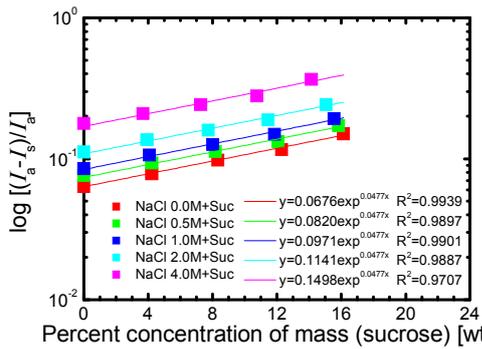


図7 糖 - 塩水溶液における溶質組成と減衰率対数値の関係

(3) バイオケミカルセンサへの展開

①複雑系かつ希薄糖-塩水溶液系の計測

これまでの研究成果から、本課題で提案した曲げた光ファイバを用いる計測手法は、分光吸収スペクトル測定において最も重要なランバートベールの法則に準じた光の減衰率データが得られることがわかった。しかし、この結果は糖の質量百分率濃度0~24wt% (全質量34wt%) と非常に濃い濃度範囲での基礎検討結果であり、また、糖-塩水溶液は単純な3成分系であるので現実的ではない。そこで、生体モデルとして、あるいは実際の食品や発酵・化学反応の場を想定し、様々な物質の混合物であり濃度0~30 g dm⁻³(0~0.3wt%程度)の糖を含んだムラシゲ-スクーグ (MS) 培地を用いて、センサ応答を調べた (図8)。ただし、減衰率計算の対照は水としている。

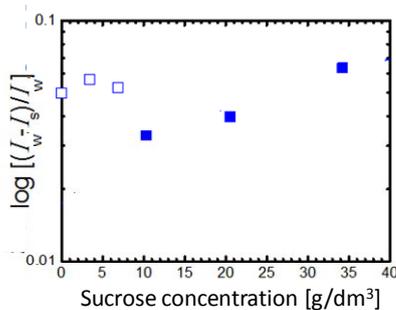


図8 糖 - 塩水溶液における溶質組成と減衰率対数値の関係

この濃度範囲では直線関係は得られなかった。特に10 g/dm³ (0.1wt%) 以下の濃度範囲 (白抜シンボル) でバラツキが顕著であり、この濃度範囲での計測は難しいと思われる。これは水を基準とした場合、希薄糖-塩水溶液では曲げた光ファイバを通過する光の減衰率が極めて小さいためであると思われる。また、構築したセンサシステムは、対照とサンプルを別々に測定しており、そ

れも誤差を生じる原因であると考えられた。

②フォトダイオードとLEDを用いたセンサ回路構築

対象である水とサンプルを同時に測定し、かつわずかな光の減衰率 (光量差) を増幅する工夫をおこなった。具体的には、フォトダイオード (PD) とLEDを用いて、水-サンプル間の差動増幅回路を作成した (図9)。MS培地を用いたアラビドプシス細胞培養系の経時的な糖濃度変化の計測に適用し、赤外分光法を援用した糖濃度測定値と比較した。その結果、極めて濃度が薄い領域では、塩やその他の成分による影響はみられるものの、全体的には赤外分光法による糖濃度計測値と光ファイバセンサの光減衰値による糖濃度の計算結果はよく一致した (図10)。

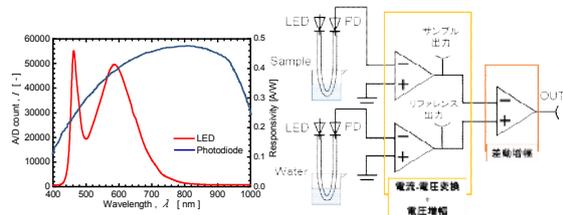


図9 センサ構築に用いたPDとLEDの特性とセンサ概略図

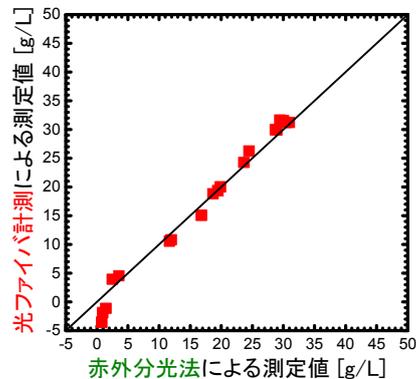


図10 赤外分光法を援用した糖濃度計測値と光ファイバセンサによる全糖濃度の対角線プロット

培養中、経時的に取得した全糖濃度を用いて、ロジスティック曲線によるカーブフィッティングを行った (図11)。また、反応速度式から算出される糖消費速度を、赤外分光法による計算値と比較した (図12)。複雑系かつ低濃度の溶質計測が可能となり、バイオケミカルセンサとしての適応可能性が示された。

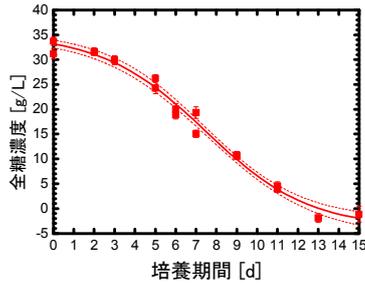


図 11 全糖濃度変化に対するカーブフィッティング結果

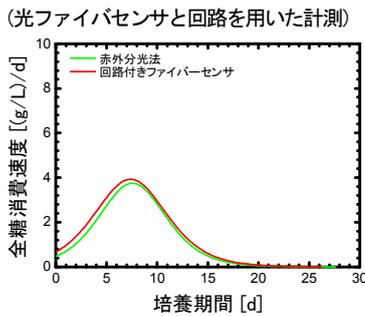


図 12 糖消費速度の計算結果 (赤外分光法との比較)

(4) 分光センサ化への挑戦

図 13 に、試作した分光センサプローブ外観とスペクトル計測結果を示す。非常に濃い色素溶液を用いているが、曲げた光ファイバは投げ込み型逆ATRプローブとしての用途開発が可能ではないかと思われる。ファイバ曲部に固定化した色素や抗体などの光量変化検出には、4.3(2)で示したような工夫が必要だと思われた。しかし、連続したファイバを光が通過している構造を有する本手法は、その工夫が比較的簡単に行えるであろう。

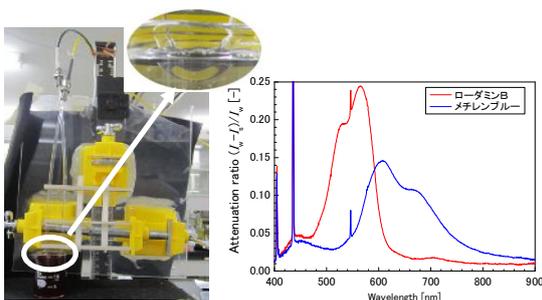


図 13 試作した分光センサプローブとそれを用いて取得された色素の分光スペクトル

以上のことから、基本性能とその実用化指針（バイオケミカルセンサへの展開と分光センサ化）を通して、提案する光ファイバセンサの本センサシステムの応用拡大に関する重要な知見を得ることができたことから、挑戦的萌芽としての本研究の当初の目的はほぼ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)

[学会発表] (計 1 件)

末原 憲一郎・中村友香・亀岡 孝治・橋本 篤, 曲げた光ファイバを用いた糖-塩水溶液系の計測, 日本食品工学会第16回大会 (2015年8月10-11日、広島市立大学、広島市)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

末原 憲一郎 (SUEHARA, Ken-ichiro)
三重大学・大学院生物資源学研究科・准教授
研究者番号：70291614

(2) 研究分担者

橋本 篤 (HASHIMOTO, Atsushi)
三重大学・大学院生物資源学研究科・教授
研究者番号：40242937

以上