

令和 3 年 6 月 4 日現在

機関番号：82706

研究種目：基盤研究(B)（一般）

研究期間：2018～2020

課題番号：18H01651

研究課題名（和文）先端フロー分析と光センサ技術で挑む海洋の生物地球化学計測の新展開

研究課題名（英文）Innovation on in situ biogeochemical measurement with advanced flow-analysis and optical sensing technology

研究代表者

福場 辰洋（Fukuba, Tatsuhiro）

国立研究開発法人海洋研究開発機構・研究プラットフォーム運用開発部門・主任研究員

研究者番号：80401272

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 13,500,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では、海洋環境で使用可能な超小型の現場計測装置の実現を目指した。特に、最先端の光計測技術を用いた分析装置を実現するための研究開発を実施した。光検出器にはマイクロPMT（Photo Multiplier Tube）を採用した。ATP（アデノシン3リン酸）定量用のマイクロ流体デバイスについては、3Dプリンタ技術を用いて小型化した。またマイクロPMTは、油漬状態で耐圧容器無しで、海中環境で使用できることを示した。以上の研究開発の結果、現場ATP分析装置全体の超小型化を実現し、各種水中センサーと共に卓上サイズの小型水中ロボットに搭載して実海域試験を行うことで、多項目同時計測の可能性を実証できた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究の成果を応用することで、海中で使用される分析装置の中でも、高感度な光計測を必要とする微量金属や生体関連成分の分析を目的とした装置の超小型化が可能になる。これにより、小型の海中プラットフォームへの分析装置の搭載が可能になるため、広大な海洋環境の網羅的な計測を目指す分散センシングなどに応用可能である。小型化された分析装置は、地球環境変動のより詳細な把握や新たな資源の探査および環境影響評価など、多様なミッションに適用可能であり、新たな海洋科学・海洋利用に資すると共に、人類社会の持続的な発展に貢献できる。

研究成果の概要（英文）：In this study, we aimed to realize ultra-compact in-situ measurement devices that can be used in the marine environment. In particular, we conducted research and development to realize flow-analyzers with state-of-the-art optical measurement technology. We adopted a micro PMT (photo multiplier tube) as a photodetector and the microfluidic device for ATP (adenosine triphosphate, proxy of microbial biomass) determination was miniaturized utilizing a 3D printer technology. Furthermore, we demonstrated that the micro PMT can be used underwater condition by applying oil-immersed configuration without a pressure-resistant housing. As a result of the above research and development, we achieved the ultra-miniaturization of the entire in situ ATP analyzer, and were able to demonstrate the possibility of simultaneous measurement of multiple environmental parameters by mounting it on a small desktop-size underwater robot together with various underwater sensors through the sea trial.

研究分野：海中計測工学

キーワード：海洋計測 現場計測 光センサ 微弱光 マイクロ流体デバイス

1. 研究開始当初の背景

近年、遠隔操縦無人探査機(ROV)や自律型無人探査機(AUV)等の海中プラットフォームの小型化がめざましい。また、ARGO ブイ等の漂流ブイ、海中グライダー、ウェーブグライダー等の極めて小型のプラットフォームを用いた長期間・長距離・高時空間分解能で特徴付けられる海洋計測手法が、局地的あるいは地球規模の海洋環境の動的な変化について新たな発見をもたらし始めている。それに伴い、水温・深度・塩分等の基礎的な物理化学環境パラメタを計測するセンサについては小型・高精度のものが市販・実用されている。一方、計測に試薬とサンプルの反応を要するフロー式現場分析装置についても、急速な発展を遂げたマイクロマシン・マイクロ流体デバイス関連技術の応用により小型化が進展してきた。例えば研究代表者らは、深海環境でマンガニオンや微生物バイオマス指標である ATP (アデノシン 3 リン酸) の定量分析を、特に化学・生化学発光反応によって行うフロー式現場分析装置を開発・評価してきた。また、海洋複合計測を目指して、小型の半導体化学センサやシンチレーションセンサ等についても開発、展開してきた。現在までに、核となる分析操作の自動化と小型化がほぼ実現できており、典型的には長さ数十 cm、重量数 kg 程度の装置を ROV や AUV に搭載して展開できることを実証してきた。

2. 研究の目的

本研究では、フロー式現場分析装置の小型化において課題となっている光計測装置に最先端の光センサ技術を応用することで高度な小型化を実現し、主にフロー式現場分析装置の装置全体の小型化を達成するための基盤技術として確立することを目的とした。具体的には新たな光センサ技術とこれまでに技術的な蓄積がなされてきたマイクロ流体デバイス技術を組み合わせることで、ATP 濃度計測に代表される様な発光強度の計測に基づいた化学・生化学分析を現場で行うことができる手のひらサイズの現場型装置の具現化に挑戦した。それによって小型の海洋観測プラットフォームを用いた革新的な生物地球化学複合海洋計測を可能にすることを目指した(図1)。

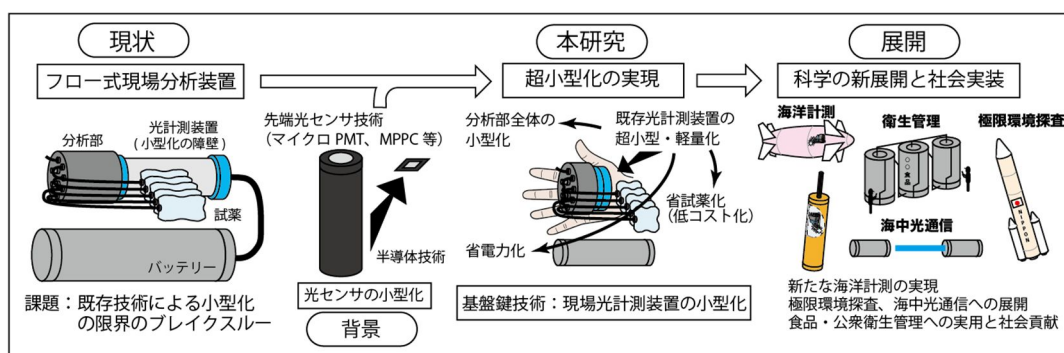


図1 本研究の背景、目的および展開

3. 研究の方法

本研究では、小型の光センサとして、受光面が数 mm 角、装置全体でも数 cm 角程度のマイクロPMT(photo multiplier tube)を採用した。また、半導体素子を用いた光センサにおいても、高感度かつ受光素子がアレイ配置された MPPC (Multi-Pixel Photon Counter) について評価を実施した。ルシフェリン-ルシフェラーゼ反応による ATP 定量分析用のマイクロ流体デバイスと組み

合わせることで比較検討を行うと共に、最適な駆動回路の設計・製作を行った。特に APD や MPPC は PMT に比べて外部からの電気ノイズの影響を受けやすいため、それらの駆動回路について送液系の送液系や制御回路からのノイズ影響が低減されるように設計した。

同時に、光センサを応用した化学センサや流れ分析装置を、深海を含めた海中の環境で使用する為の構造について、耐圧構造に加えて均圧構造の採用を検討した。均圧化のための一般的な手法である油漬構造とする他に、透明樹脂包埋による均圧化、樹脂内に局所的な耐圧構造を形成する手法などを応用し、光センサの特性等に与える圧力の影響を比較検討することで、最適な手法を検討した。光検出部の小型化に合わせて、マイクロ流体デバイスの発光部容量の縮小、小型ポンプ・バルブ採用等の最適化を行った。

海中ロボット等の小型海中プラットフォームを用いた複合計測については、小型流れ分析装置に加えてこれまでに開発してきた化学センサなどを同時に用いて、具体的な搭載方法や運用法などの検討を実施した。

最後に、本研究の成果を超小型 ATP 定量分析装置のプロトタイプとして結実させ、化学センサ類と共に小型の無人探査機等に搭載し、海洋現場において複合計測の実証試験をおこなった。

4. 研究成果

初年度の研究ではまず、マイクロPMT及びMPPCの2種類の超小型の光センサについて基礎的な評価を実施した。その結果、マイクロPMTを用いた方が、装置構成がやや複雑になるものの、微弱光検出感度が高いことが明らかとなった。そこで、選定したマイクロPMTに適合する流路構造を有するマイクロ流体デバイス(図2)を設計・試作し、マイクロPMTと組み合わせた上で、ATP(アデノシン3リン酸)の定量評価を実施した。その結果、これまでの大型PMTを用いた装置と比べてほぼ1桁の感度低下が見られたが、100 pMオーダーのATP定量が可能であり、表層および沿岸海域で十分に使用できることを実証した(図3)。また、光検出感度の向上を実現するため、マテリアルジェット式3Dプリンタを用いた3次元的なマイクロ流路の設計・試作に着手した。送液系についても、従来装置より小型で低消費電力な送液ユニットを設計・導入した。

続いて、マイクロPMTとマイクロ流体デバイスを組み合わせることで、小型のATP定量分析装置のプロトタイプを完成させた(図4)。マイクロ流体デバイスの製作に3Dプリンタを用いることで、3次元的な光計測用多層マイクロ流路を構築できた。それによって従来の単層流路の場合よりも光検出部の容量を大きくする事が可能になり、小型の光センサでも発光検出感度を維持することができた。また、3Dプリンタを用いることで、送液のためのマイクロバルブ、マイクロポンプを積載するための構造についても同時に作り込むことが可能であるため、送液系も含めて全体的に小型の現場計測システムを実現できた。ここでは、簡易的にマイクロPMTにも防水性を

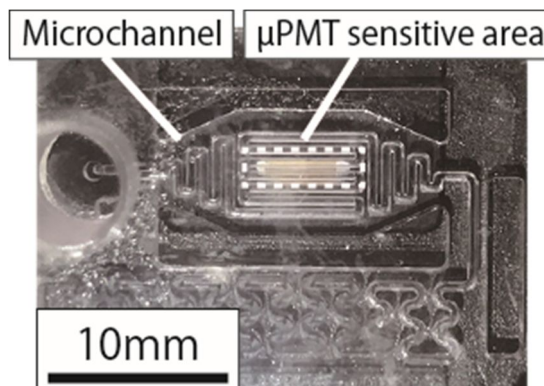


図2 マイクロPMTに合わせて設計されたATP定量のマイクロ流体デバイスの光検出部

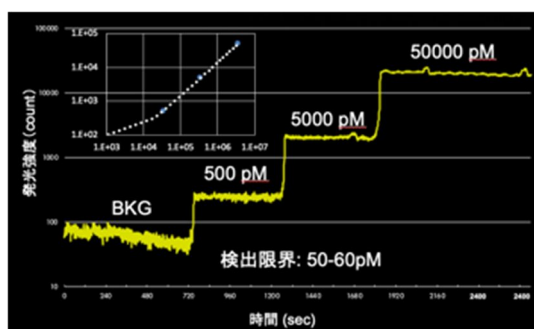


図3 マイクロPMTと小型化されたマイクロ流体デバイスによるATP定量の結果

持たせた構造としたため、全ての構成要素を油漬け(均圧)とした、耐圧容器レスの装置構成を実現できた。完成させたプロトタイプについて卓上における評価試験の後、冬期サロマ湖において現場実証試験を行った。その結果、装置内温度を維持するヒータの出力およびピエゾ駆動方式のマイクロポンプと熱式流量センサの組み合わせに改善の余地があるものの、全体として正常に動作し、ATP濃度を計測

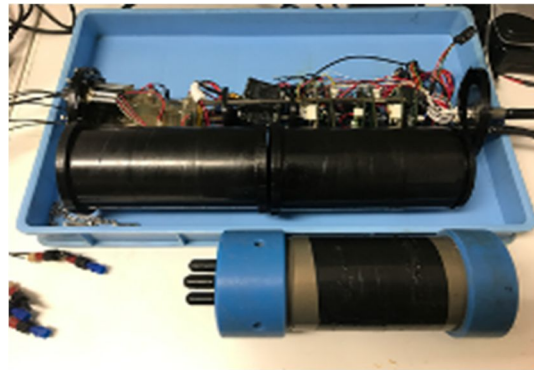


図4 小型化された現場型 ATP 定量分析装置

できることを明らかにできた。また、長崎県橘湾および千葉県館山において電気化学センサ等を用いた試験を実施することで、小型のROVへの装置組み込みと、それを用いた現場計測に向けた課題抽出および複合計測に向けた課題抽出ができた。これにより、電池ボックスを含めた具体的な装置サイズおよび形状の条件を確認できた。

以上の研究開発の成果を元に、研究最終年度において現場型ATP定量分析装置のプロトタイプの改良を実施した。具体的には超小型光センサの油漬構造への見直しとヒータ容量の向上を実施した。これにより、防水構造を持たない完全均圧構造のマイクロPMTによる現場計測が可能になった。また、ヒータ容量の向上によって、温度安定性が向上し、低温の水中でも高感度な計測が可能になった。

小型電気化学センサについては引きつづき、長崎県橘湾等において小型AUVに搭載して連続計測を行うことで、センサ性能実証のためのデータを取得すると共に、超小型プラットフォームへの装置組み込み法の検討を行った。また、光ファイバによるセンシング技術について、新たにヘテロコア光ファイバの採用について基礎検討をおこなった。加えて、硝酸塩濃度について、吸収スペクトル分析により光学的に計測する手法を新たに導入するとともに、小型漂流ブイ筐体への取り付け法について、3Dプリンタを用いて試作検討を実施した。

本研究による開発および小型プラットフォームを用いた現場複合計測に関する知見の蓄積を元に、2021年3月には鹿児島湾において現場型ATP定量分析装置と小型pH/pCO₂化学センサ、及びCTDセンサの同時運用試験を行った(図5)。以上の実海域評価によって、本研究によって開発されたセンサおよびマイクロ流体分析装置の実海域における性能を実証することができた。計測の結果については今後評価を行う予定である。

以上、本研究によって、小型光センサの応用による現場分析装置の超小型を実証することができた。特に、耐圧容器を用いることなく高感度光計測を行うことが可能であることが示されたことで、広範な光計測分野に展開が可能な基盤技術を確立することができたと言える。本研究による小型化の成果として、超小型流れ分析装置と化学センサを小型プラットフォームに搭載し、複合計測を実現するという挑戦についても実海域評価を通して実用性を実証することができた。



図5 超小型ROVに搭載された現場型 ATP 定量分析装置および各種化学セン

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Tatsuhiko Fukuba, Teruo Fujii	4. 巻 21
2. 論文標題 Lab-on-a-chip technology for in situ combined observations in oceanography	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Lab on a Chip	6. 最初と最後の頁 55-74
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1039/D0LC00871K	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 福場辰洋	4. 巻 121
2. 論文標題 マイクロ流体技術による海洋化学・生化学計測	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 日本機械学会誌	6. 最初と最後の頁 28-31
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1299/jsmemag.121.1199_28	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計11件（うち招待講演 0件/うち国際学会 3件）

1. 発表者名 宮本洋好, 岡村慶, 野口拓郎, 八田万有美
2. 発表標題 紫外吸光度法を用いた海水中硝酸 塩の現場分析法の検討
3. 学会等名 2020年度日本地球化学会第67回
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 宮本洋好, 岡村慶, 野口拓郎, 八田万有美
2. 発表標題 紫外分光光度法を用いた海水中溶存 硝酸態窒素濃度の現場分析法開発
3. 学会等名 第80回日本分析化学会討論会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 下島公紀
2. 発表標題 オホーツク海南岸における長期連続観測へのpH/pCO ₂ センサの適用
3. 学会等名 日本海洋学会2020年度秋季大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 下島公紀
2. 発表標題 現場型ガンマ線センサによる外洋域での鉛直連続計測
3. 学会等名 GEOTRACES-Japanシンポジウム
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 T. Fukuba, Y. Sano, H. Yamamoto, T. Miwa, and T. Fujii
2. 発表標題 Development and improvement of miniaturized in situ bio/biochemical analysis systems towards multi-modal ocean sensing
3. 学会等名 Underwater Technology 2019 (UT'19) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 佐野優貴, 三輪哲也, 福場辰洋
2. 発表標題 海洋現場におけるATP (アデノシン3リン酸) 定量測定に向けた3Dプリンタ製マイクロ流体デバイスの設計・評価
3. 学会等名 電気学会 マグネティックス・マイクロマシン・バイオマイクロシステム合同研究会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 T. Fukuba, Y. Sano
2. 発表標題 Application of 3D-Printed Microfluidic Device and Miniature Photodetection Technology Towards Photometry Based Biochemical Analysis in Deep Sea
3. 学会等名 The 23rd International Conference on Miniaturized Systems for Chemistry and Life Sciences (μ TAS2019) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 K Shitashima
2. 発表標題 Sensor fusion to ocean observing platforms
3. 学会等名 OceanObs ' 19 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 福場 辰洋, 佐野優貴, 藤井輝夫
2. 発表標題 小型分析装置による微生物バイオマスの現場定量と現場遺伝子解析への展開
3. 学会等名 ブルーアースサイエンス・テク2019
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 佐野優貴, 福場 辰洋, 三輪哲也
2. 発表標題 現場ATP定量用マイクロ流体デバイスの小型化 -試作と評価-
3. 学会等名 ブルーアースサイエンス・テク2019
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 福場 辰洋
2. 発表標題 海中現場生物計測への挑戦と展開ーバイオマス計測から遺伝子分析へ
3. 学会等名 ブルーアースサイエンス・テク2019
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分担者	岡村 慶 (Okamura Kei) (70324697)	高知大学・教育研究部総合科学系複合領域科学部門・教授 (16401)	
研究 分担者	下島 公紀 (Shitashima Kiminori) (70371490)	東京海洋大学・学術研究院・教授 (12614)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------