

われている¹³⁾⁻¹⁵⁾。また食品に関しては品質を管理する上で水と水量を計測する製品などが市販されている。一方医薬品分野では結晶多形をとる医薬品が数多く存在している¹⁶⁾。結晶多形をとる物質は水和物になりやすく¹⁷⁾、医薬品に結合した水分により、溶解性、吸収性、生理活性が異なる¹⁸⁾⁻²⁰⁾。このため、水和を防ぐための数々の賦形剤が使用されている²¹⁾。

そこで本研究では、物質の安定性や溶解性に重要な役割を担っている粉体中の水分量を知る分析方法として、THz 分光スペクトルを利用し、モデルとしてグルコースをホワイトポリエチレンで希釈したペレットを使用し、定量的な分析を試みた。グルコース粉末は、水和物と無水物の状態で存在し、これらの違いは分子間相互作用の違いとして表れることが期待できる。そこでカールフイッシャー法による水分計測結果と THz 帯分光スペクトルの関係について調べた。なお、THz 帯の分光測定には先の実験と同じ FT-IR を使用した。

図2に一水和物から無水物に変化するグルコースの吸光度スペクトルを示す。これらのサンプルは、カールフイッシャー法で水分含水量を測定した結果、重量パーセントで 8.77% (一水和物)、6.31% (脱水和物 1)、2.45% (脱水和物 2)、1.52% (脱水和物 3)、0.15% (無水物) であった。この帯域では、水のみを分光スペクトルには特徴的な吸収ピークが見られず、ブロードなスペクトルを示すため、これらの明瞭な吸収ピークは水分とグルコースの相互作用に起因するものと推測できる。

吸収ピークは、一水和物の場合、 60.3 cm^{-1} 、 65.6 cm^{-1} 、 80.5 cm^{-1} に表れ、無水物では、 47.7 cm^{-1} 、 69.4 cm^{-1} 、 89.1 cm^{-1} 、 98.3 cm^{-1} に表れている。脱水和物の場合、一水和物と無水物の両方のスペクトルの特徴を併せ持つが、水分量が少なくなるにつれて、一水和物に特徴的な 47.7 cm^{-1} 、 80.5 cm^{-1} の吸収ピークが減少し、無水物に特徴的な 69.4 cm^{-1} 、 89.1 cm^{-1} 、 98.3 cm^{-1} のピークが増加していく様子が観測された。このような水分の減少に伴う明瞭なスペクトル形状の変化が観察されたのは、加熱による水の脱離により水和物の分子全体の大きな振動モードや水素結合などの分子間の相互作用、フォノンモードが変化するためと考えられる²²⁾⁻²⁴⁾。この結果から、THz 帯で見られる分光スペクトルの変化は、グルコース分子内の水和水による影響によるものである

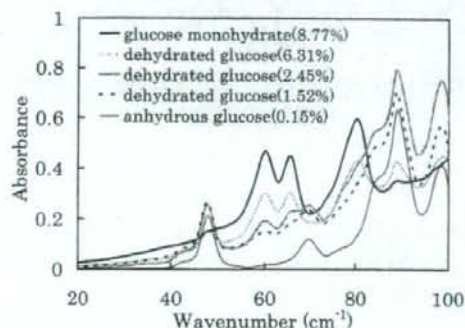


図2 水分量の異なるグルコース結晶のスペクトル

と考えられる。

さらに吸収ピークの詳細な分析を行い、水分量と重相関の高い周波数の組み合わせを求め、その検量線の評価を行った。その結果、最も低い予測標準誤差 (SEP) が得られるものは 60.3 cm^{-1} 、 65.6 cm^{-1} 、 80.5 cm^{-1} の波数を用いて検量線を作成したものであり、重相関係数(R)は 0.9521、予測標準誤差(SEP)は 0.736 であった。図3に評価用試料を用いて評価したときの試料散布図を示す。

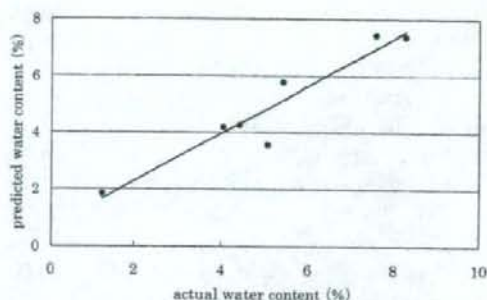


図3 予測値と実測値の検量線評価結果
($R = 0.9521$, $SEP = 0.736$)

Hough らのグルコース一水和物結晶に関する報告²⁵⁾から、グルコース一水和物結晶の水分子は、4つのグルコース分子に水素結合によって捕らえられていることが考えられる。この条件のもと、一分子モデルでの量子計算 (B3LYP/6-31G(d,p), B3LYP/6-311++G(d,p)) を行った結果、c-c 結合の周りの内部よじれ振動が、主に今回の実験結果でスペクトルが大きく変化した 60.3 、 65.6 、 80.5 cm^{-1} に表れ、このうち、 65.6 cm^{-1} は等価な2つの振動であることがわかった。また、最も水分子が抜けやすいと考えられるのは、キャビティーの大きい b 軸と考えられる。この b 軸から優先して抜けた場合、4つのグルコースと順次水素結合 (そのうち 2 つは等価な振動) が脱離し、相互作用の変化が THz 帯分光スペクトルに表れると考えられる。このことから、本研究で見られた THz 帯分光スペクトルの変化は、水の脱離に伴う分子間相互作用の変化を反映したものと考えられる。

2.3 チーズの分光測定

近年の生産規模の拡大と食の安全に対する意識向上を背景として、より迅速な検査への需要が高まっている。このことを受け、簡便で試薬を必要としない赤外・近赤外領域の電磁波を利用した分析手法が研究されてきた。この方法は分子内結合を観測するもので、生乳の成分分析では米国の公定法として認められているなど既に実用化がなされている。チーズは欧米では一般的な食材であり、品質評価に関しても幅広く研究が進められている²⁶⁾⁻²⁸⁾。主成分である水分、タンパク質、脂質は THz 領域ではそれぞれ吸収の度合いが異なる。また、チーズには脂肪球のような数十 μm 程度からカゼインミ

セルのような数十 nm 程度の構造が存在する²⁸⁾。以上より、THz 分光の食品分析ツールとしての有効性を検討する材料としてチーズが適当であると考えた。しかし、乳製品の品質評価への試みは未だ報告されていない。そこで本研究では、THz 波によるチーズの分光測定と情報解析を目的とし、分光スペクトルと成分含量やタンパク質構造との関係について検討した。

まず、FT-IR による透過測定を数種類のチーズについて行った。これらの測定結果と文献値²⁹⁾における水分、タンパク質および脂質含量との相関関係を調べた。さらに、製造メーカーの異なるカマンベールチーズ 8 種、ゴーダチーズ 4 種、マスカルポーネチーズ 4 種について、切片を作製して赤外分光器での透過測定に供した後、水分(常圧加熱乾燥法)、タンパク質(ケルダール法)および脂質含量を定量³⁰⁾し、透過スペクトルの解析結果と比較した。同時にタンパク質・脂質二重染色法を用いたチーズ試料の組織観察³¹⁾を行い、透過スペクトルとの比較をいった。図4にカマンベールチーズ、ゴーダチーズ、マスカルポーネチーズ3種類の吸光度スペクトルを示す。また、図5にタンパク質、脂質と 225 cm⁻¹の吸光度との相関を調べた結果を記す。一連の実験結果から、タンパク質含量の増加に伴う吸光度の上昇、種類によるスペクトル形状の違いが確認された。種類を限定して行った透過測定からは、吸光度とタンパク質や脂質含量間にはっきりとした相関性が確認され、THz 分光を利用した定量分析技術の可能性が示唆された。

種類ごとに透過スペクトルの形状に特徴があることも確認されたことから、アセトンやエタノールで脱脂処理した前後でスペクトルの比較を行ったが、スペクトル形状に変化はなく、バターとのスペクトルとも一致しなかった。そのため、この形状はタンパク質に起因すると推察された。さらに、カゼインの吸収スペクトルとも一致しないため、この形状はタンパク質の形成する組織構造あるいは発酵過程で生じた微量成分由来であると考えられた。また、一部のカマンベールチーズには食塩の吸収と一致するピークも見られ、今回は考慮しなかった微量成分や熟成度の違いなどの要素も影響していると考えられる。以上より、チーズの成分・構造の評価系として、THz 帯の分光情報を利用した品質分析の可能性が示された。

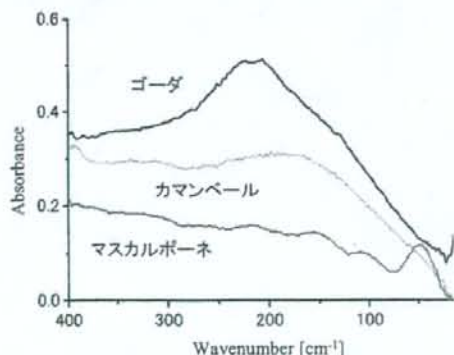


図4 種類の異なるチーズの吸光度スペクトル (サンプル厚 50 μm)

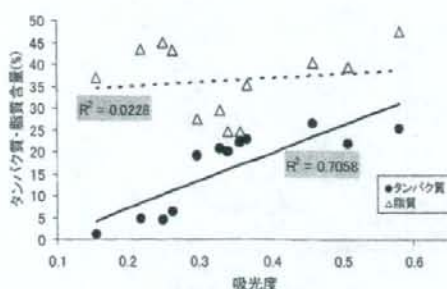


図5 タンパク質・脂質含量と吸光度の相関

3. 金属メッシュを用いた生体高分子のセンシング

現在、食品分析の分野において、食肉や鮮魚のタンパク質や DNA といった生体高分子は分析のターゲットであり、食の安全・安心を守る上で偽装表示のチェックや産地特定、病原菌・アレルゲン検査など多くの場面で検査が行われるようになっている。我々は、このような検査での利用を目指した金属メッシュを用いた生体高分子の相互作用検知に関する研究を行っている。金属メッシュは、エレクトロフォーミング(電鍍)法によって様々なサイズのものに既に市販されており入手が容易であり、本研究では約 6 μm の厚みを持つ金属メッシュをセンサー部材として利用した。なお、今回実験で使用したメッシュの材質はニッケルである。このような金属性メッシュの透過特性は、赤外領域において古くから実験的な解析^{32), 33)}が行われ、構造的なパラメータと透過特性の関係が報告されている。

図6に FT-IR で測定を行なった金属メッシュの透過スペクトルと、赤外領域域での実験的解析結果から導き出された計算手法^{34), 35)}を元に、金属メッシュの透過特性を計算した結果を示す。この金属メッシュは、グリッド間隔(g)が 63.5 μm、開口形状は四角形で、1 辺が 45 μm である。本測定を行った FT-IR は、サンプルに対して集光光学系となっており、また、金属メッシュ表面でのスポットの直径は約 5 mm である。金属メッシュの開口サイズと波長が同程度の場合、透過率は開口率を上回っている。このような異常透過現象は、表面プラズモンが金属表面に励起されるために起こる現象と考えられる。また、透過率が急激に減少するディップ(谷)がみられる。このようなディップは、THz 波が金属メッシュに対して斜入射の場合に観察され、斜入射の際に金属表面に励起された表面波のモードの分裂によって生じるものと考えられる³⁶⁾。さらに、このような透過特性は、金属メッシュ上にサンプルを載せた場合、その量に応じて低周波側へシフトする現象が観測される³⁷⁾。この結果、先述の急峻なディップを利用することで高感度なセンシングが可能となる。そこで本実験では、生体高分子を直接金属メッシュ上に塗布し、その量に応じたディップ部の周波数のシフトを観測することとした。

このとき、サンプルの定量的な塗布は本実験を行う上で重要な点である。インクジェットプリンタはすでに DNA

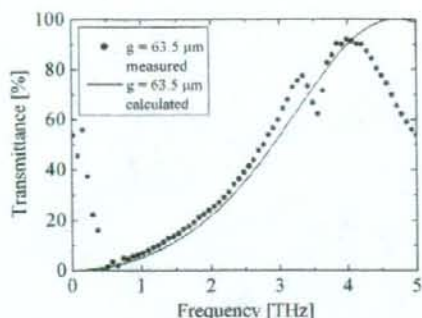


図6 金属メッシュの透過率測定結果と文献をもとにした計算値の比較

の固定などに使用されており、微量な液滴を均一に塗布する上で優れた性能を持つ。そこで本実験では、金属メッシュにプリンタで直接ペルオキシダーゼを塗布し、FT-IRにて透過スペクトルを測定した。

実験試料として、標識酵素として広く用いられているペルオキシダーゼ(ナカライテスク株式会社 免疫化学用 凍結乾燥粉末)を滅菌蒸留水に溶解させ 1.0 mg/ml, 0.5 mg/ml, 0.25 mg/ml, 0.125 mg/ml の濃度に調製したものを使用した。この試料を均一かつ定量的に塗布するため、市販のインクジェット方式のプリンタ(Canon Pixus 860i)を使用し、画像処理ソフトで画面上の描画濃度を調整することでプリンタのインク吐出量を調整し、金属メッシュ($g: 76.3 \mu\text{m}$, 開口サイズ: $58 \mu\text{m}$, $t: 6 \mu\text{m}$)に塗布した。

図7にペルオキシダーゼの塗布量を変化させた場合の、金属メッシュのディップ周波数を示す。本図は、ディップ部分について Lorentz 関数を施し、近似曲線から求めたディップの周波数と塗布したペルオキシダーゼ量の関係を示している。300 pg/mm^2 のときは透過特性の変化は観察されなかったが、500 pg/mm^2 から 2100 pg/mm^2 の3段階の濃度で薄型金属メッシュ単体と比較して透過特性の低周波数側へのシフトが確認できた。1100 pg/mm^2 のときシフト量は最大になり、さらに濃度を上げてもシフト量が増加しないことが観察された。2100 pg/mm^2 のときにディップ周波数が高周波側に移動した理由としては、塗布したペルオキシダーゼが不均一となっ

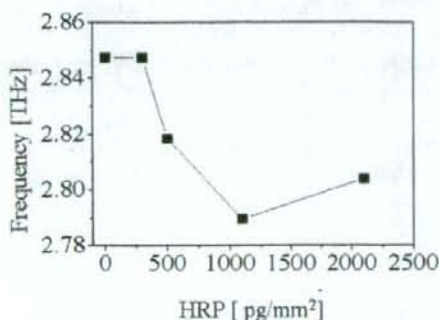


図7 ディップ周波数のシフトの様子

たためと予想される。一方で、500 pg/mm^2 のペルオキシダーゼが検出されたことから、金属メッシュによる検出は従来法に匹敵する十分な感度を備えていることが分かった。

4. おわりに

食の安全・安心を確保することを目標とした研究には、品質を守る技術や偽装を見破る技術、危険な食品から身を守る検査技術など様々な切り口のものと考えられる。本報では特に、品質検査に関する THz 波の応用と、将来的にはアレルギー検査や BSE 検査などでの応用を目指した THz 波応用を提案した。これらは、まだ研究段階ではあるが、将来的にこの分野の産業に貢献できるかどうかは、THz 技術の向上や低コスト化にかかっていると看しても過言ではない。安く簡便に分析できることが、食の安全・安心を守る技術に最も大切な要素であることを認知しておくことが重要である。

謝辞

本研究の遂行にあたり、東北大学農学部の形態機能学分野の山口高弘教授ならびに動物資源化学分野の齋藤忠夫教授、機能分子解析学分野の宮澤陽夫教授、理化学研究所テラヘルツイメージング研究チームの大谷知行チームリーダー、名古屋大学エコトピア科学研究所の川瀬晃道教授、信州大学理学部の宮丸文章助教、岩手大学工学部土岐規仁准教授に御協力いただきました。また、当研究室の林伸一郎助教、学生の皆様の日頃の研究活動に心より感謝申し上げます。また、本研究の一部は、厚生労働省科学研究費補助金萌芽的先端医療技術推進研究事業よりサポートされました。

- [1] M. van Exter and D. Grischkowsky, *Physical Review B*, **41**, 12140, 1990.
- [2] M. Hangyo, T. Nagashima and S. Nashima, *Meas. Sci. Technol.*, **13**, 1727, 2002.
- [3] V. P. Wallace, P. F. Taday, A. J. Fitzgerald, R. M. Woodward, J. Cluff, R. J. Pye and D. D. Arnone, *The Royal Society of Chemistry*, **126**, 255, 2003.
- [4] M. Brucherseifer, M. Nagel, P. H. Bolivar, H. Kurz, A. Bosserhoff and R. Büttner, *Appl. Phys. Lett.*, **77**, 4049, 2000.
- [5] M. Nagel, P. H. Bolivar, M. Brucherseifer, H. Kurz, A. Bosserhoff and R. Büttner, *Appl. Phys. Lett.*, **80**, 154, 2002.
- [6] S. P. Mickan, A. Menikh, H. Liu, C. A. Mannella, R. MacColl, D. Abbott, J. Munch, and X.-C. Zhang, *Phys. Med. Biol.*, **47**, 3789, 2002.
- [7] B. Ferguson and X.-C. Zhang, *Nature materials*, **1**, 26, 2002.
- [8] M. R. Querry, D. M. Wieliczka, D. J. Segelstein, *Handbook of Optical Constants of Solid II*, Edited by Edward D. Palik, Academic Press, San Diego, 1059, 1998.
- [9] J. A. Troller, J. H. B. Christian, *Water Activity and Food*, Academic Press, Tokyo, 1978.
- [10] 藤田 哲, 食用油脂, 幸書房, 2000.

- [11] 小原哲二郎, 食用油脂とその加工, 建帛社, 1987.
- [12] 上平恒, 多田羅恒雄, 水の分子生理 第1版, p. 20. メディカルインターナショナル, 1998.
- [13] M. Ishimura, H. Uedaira, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **63**, 1, 1990.
- [14] S. Okouchi, T. Moto, Y. Ishihara, H. Numajiri, H. Uedaira, *J. Chem. Soc. Faraday Trans.*, **72**, 1853, 1996.
- [15] Y. Nozaki, C. Tranford, *J. Biol. Chem.*, **246**, 2211, 1971.
- [16] H. G. Brittain, *Polymorphism in pharmaceutical solids*, Marcel Dekker, New York, 1999.
- [17] H. P. Stahl, *Towards Better Safety of Drugs and Pharmaceutical Products*, Edited by D. D. Braimar, p. 265, Elsevier, Amsterdam, 1980.
- [18] N. Khalafallah, S. A. Khalil, M. A. Moustafa, *J. Pharm. Sci.*, **63**, 861, 1974.
- [19] A. A. Ali, A. Farouk, *Int. J. Pharm.*, **9**, 239, 1981.
- [20] A. J. Aguiar, J. E. Zelmer, *J. Pharm. Sci.*, **58**, 983, 1969.
- [21] A. K. Salameh, L. S. Taylor, *J. Pharm. Sci.*, **95**, 446, 2006.
- [22] M. Walther, P. Plochocka, B. Fischer, H. Helm, P. U. Jepsen, *Biopolymers*, **67**, 310, 2002.
- [23] M. Walther, B. Fischer, M. Schall, H. Helm, P. U. Jepsen, *Chem. Phys. Lett.*, **332**, 389, 2000.
- [24] P. C. Upadhyaya, Y. C. Shen, A. G. Davies, E. H. Linfield, *J. Biol. Phys.*, **29**, 117, 2003.
- [25] G. M. Brown, H. A. Levy, *Science*, **147**, 1038, 1965.
- [26] J. F. Frank, G. S. Birth, *Journal of Dairy Science*, **65**, 1110, 1982.
- [27] 中澤勇二, 細野明義, 新説チーズ科学, 食品資材研究所, 1989.
- [28] 伊藤敏敏, 渡邊乾二, 伊藤良, 動物資源利用学, 文永堂出版, 1998.
- [29] 五訂増補 日本食品標準成分表, 文部科学省 (http://www.mext.go.jp/b_menu/shingi/gijyutu/gijyutu3/toushin/05031802.htm), 2005.
- [30] 厚生労働省監修, 食品衛生検査指針 理化学編 2005, 社団法人 日本食品衛生協会, 2005.
- [31] 長縄貴直, 渡邊康一, 神崎文次, 太田智章, 虹川久美子, 細野明義, 山口高弘, *ミルクサイエンス*, **51**, 33, 2002.
- [32] R. Ulrich, *Infrared Physics*, **7**, 37, 1967.
- [33] R. Ulrich, K. F. Renk and L. Genzel, *IEEE Trans. Microwave Theory Tech.*, **11**, 363, 1963.
- [34] C. C. Chen, *IEEE Trans. Microwave Theory Tech.*, **21**, 1973.
- [35] S. W. Lee, *IEEE Trans. Antennas Propagat.*, **19**, 656, 1971.
- [36] H. F. Ghaemi, T. Thio, D. E. Grupp, T. W. Ebbesen, H. J. Lezec, *Physical Review B*, **58**, 6779, 1998.
- [37] F. Miyamaru, S. Hayashi, C. Otani, K. Kawase, Y. Ogawa, H. Yoshida and E. Kato, *Opt. Lett.*, **31**, 1118, 2006.

テラヘルツ計測・イメージング応用

小川雄一・林伸一郎

東北大学大学院農学研究科・連絡先 E-mail: yogawa@bios.tohoku.ac.jp

1. はじめに

世界中でテラヘルツ (THz) 波の応用研究が盛んに行われ、光源開発など新しい技術開発以外にも、数多くの応用可能性が報告されている。その中でも THz 波ならではの利用法が見出されつつあり、その応用開拓の動向に注目が向けられている。例えば、THz 帯の分光スペクトルは多くの物質で既に見出されており、半導体や結晶多形の評価など赤外域とは異なる利用方法が期待されている。また、最近では生体高分子をターゲットとした研究も注目されており、蛍光標識を用いることなく DNA のハイブリダイゼーションや抗原抗体反応をセンシングできるため、生体高分子などのラベルフリーセンシングに関する研究が報告されている。そこで本報では、当研究室で進めている THz 波の計測およびイメージング応用研究として、食品分析、バイオセンシング、文化財修復への応用について紹介する。

2. 食品の品質評価への応用

2.1 食品油中の水分計測

食品中の水は、食品の品質や味、貯蔵、酵素活性、微生物の成長などに影響を与えるため、食品中の水分を測定することは重要な意味を持つことから現在までに様々な水分計測法が確立されている。食用油中の水分は加水分解の原因となるため、日本農林規格 (JAS) により水分量は 0.3% 以下であることが定められており、その水分量の測定法として JAS はカールフィッシャー法を定めている。本手法は滴定フラスコ内で試料を脱水溶剤に溶解し、試料中の水分を抽出した後、ヨウ素、二酸化硫黄、塩基を主成分としたカールフィッシャー試薬 (滴定溶剤) で滴定することにより水分量を求める方法である。このため、分析には有機溶剤を用いた抜き取り検査が必要となる。一方、THz 帯において、油は水よりも高い透過性を示すことが知られている。そこで微量な水分を含む食用油について、遠赤外

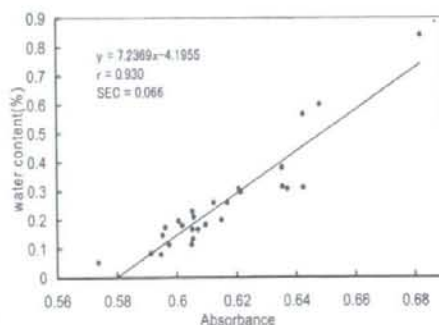


図1 カールフィッシャー法による分析結果と吸光度 ($\text{@ } 50 \text{ cm}^{-1}$) の相関

用のフーリエ変換式分光光度計 (以下、FT-FIR) を用いて透過測定を行い、既存のカールフィッシャー法と THz 帯の吸光度との相関を調べた。その実験結果を図1に示す。

本実験は光路長が 1mm の石英セルを用いて透過測定を行っており、検量線の作成には、1.5 THz での吸光度を用いている。この結果、JAS により定められている 0.3% 以下の水分量においても相関が認められる。本技術は従来の有機溶剤や抜き取り検査を不要とし、容器越しの測定が可能であることから、今後品質管理のための食用油中の水分計測での応用が考えられる。

2.2 チーズの分光測定

近年の生産規模の拡大と食の安全に対する意識向上を背景として、より迅速な検査への需要が高ま

っている。このことを受け、簡便で試薬を必要としない赤外・近赤外領域の電磁波を利用した分析手法が研究されてきた。この方法は分子内結合を観測するもので、生乳の成分分析では米国の公定法として認められているなど既に実用化がなされている。チーズは欧米では一般的な食材であり、品質評価に関しても幅広く研究が進められている。主成分である水分、タンパク質、脂質は THz 領域ではそれぞれ吸収の度合いが異なる。また、チーズには脂肪球やカゼインミセルなど数十 μm から数十 nm 程度の構造が存在する。そこで本研究では、THz 波によるチーズの分光測定と情報解析を目的とし、分光スペクトルと成分含量や波長と同程度のタンパク質構造との関係について検討した。

まず、FT-FIR による透過測定を数種類のチーズについて行った。これらの測定結果と文献値における水分、タンパク質および脂質含量との相関関係を調べた。さらに、製造メーカーの異なるカマンベールチーズ 8 種、ゴーダチーズ 4 種、マスカルポーネチーズ 4 種について、切片を作製して赤外分光器での透過測定に供した後、水分（常圧加熱乾燥法）、タンパク質（ケルダール法）および脂質量を測定し、透過スペクトルと比較した。同時にタンパク質・脂質二重染色法を用いたチーズ試料の組織観察も行った。図 2 にカマンベールチーズ、ゴーダチーズ、マスカルポーネチーズ 3 種類の吸光度スペクトルを示す。一連の実験結果から、タンパク質含量の増加に伴う吸光度の上昇、種類によるスペクトル形状の違いが確認された。種類を限定して行った透過測定からは、吸光度とタンパク質や脂質量間にはっきりとした相関性が確認され、THz 分光を利用した定量分析技術の可能性が示唆された。

種類ごとに透過スペクトルの形状に特徴があることも確認されたことから、アセトンやエタノール

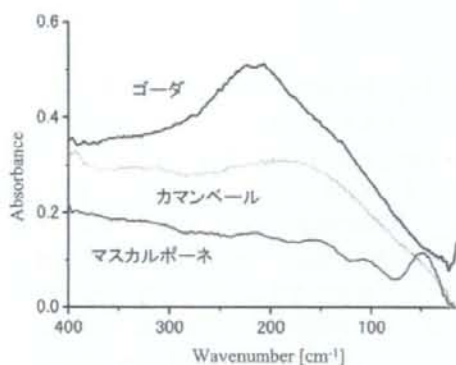


図 2 種類の異なるチーズの吸光度スペクトル (サンプル厚 50 μm)

で脱脂処理した前後でスペクトルの比較を行ったが、スペクトル形状に変化はなく、タンパク質を含まないバターとのスペクトルとも一致しなかった。そのため、この形状はタンパク質に起因すると推察された。さらに、チーズの主たるタンパク質であるカゼインの吸収スペクトルとも一致しないため、この形状はタンパク質の形成する組織構造あるいは発酵過程で生じた微量成分由来であると考えられた。また、一部のカマンベールチーズには食塩の吸収と一致するピークも見られ、今回は考慮しなかった微量成分や熟成度の違いなどの要素も影響していると考えられる。以上より、チーズの成分・構造の評価系として、THz 帯の分光情報を利用した品質分析の可能性が示

された。

3. 非標識イムノアッセイ法

我々は、金属メッシュを用いた生体高分子の相互作用検知に関する研究を行っている。金属メッシュは、エレクトロフォーミング（電鍍）法によって様々なサイズのものが既に市販されており、本研究では約 6 μm の厚みを持つ金属メッシュをセンサー部材として利用した。なお、今回実験で使用したメッシュの材質はニッケルである。このような金属性メッシュの透過特性は、赤外領域において古くから実験的な解析が行われ、機構的なパラメータと透過特性の関係が報告されている。

図 3 に FT-FIR で測定を行なった金属メッシュの透過スペクトルと、赤外領域での実験的解析結果から導き出された計算手法を元に、金属メッシュの透過特性を計算した結果を示す。この金属メッシュは、グリッド間隔 (g) が 63.5 μm 、開口形状は四角形で、1 辺が 45 μm である。本測定を行った FT-FIR は、サンプルに対して集光光学系となっており、また、金属メッシュ表面でのスポットの直径は約 5 mm

である。金属メッシュの開口サイズと波長が同程度の場合、透過率は開口率を上回っている。このような異常透過現象は、表面プラズモンが金属表面に励起されるために起こる現象と考えられる。また、透過率が急激に減少するディップ（谷）がみられる。このようなディップは、THz 波が金属メッシュに対して斜入射の場合に観察され、斜入射の際に金属表面に励起された表面波のモードの分裂によって生じるものと考えられるが、その詳細はまだ明確になっていない。さらに、このような透過特性は、金属メッシュ上にサンプルを載せた場合、その量に応じて低周波側へシフトする現象が観測され、先述の急峻なディップを指標とすることで、感度よくセンシングできる。そこで本実験では、生体高分子を直接金属メッシュ上に塗布し、その量に応じたディップ部の周波数のシフトを観測することとした。このとき、サンプルの定量的な塗布は本実験を行う上で重要な点である。インクジェットプリンタはすでに DNA の固定などに使用されており、微量な液滴を均一に塗布する上で優れた性能を持つ。そこで本実験では、金属メッシュにプリンタで直接ペルオキシダーゼを塗布し、FT-FIR にて透過スペクトルを測定した。

実験試料には、標識酵素として広く用いられているペルオキシダーゼ（ナカライテスク株式会社 免疫化学用 凍結乾燥粉末）を滅菌蒸留水に溶解させたものを使用した。この試料を均一かつ定量的に塗布するため、市販のインクジェット方式のプリンタ（Canon Pixus 860i）を使用し、画像処理ソフトで画面上の描画濃度を調整することでプリンタのインク吐出量を調整し、金属メッシュ（ $g: 76.3 \mu\text{m}$ 、開口サイズ： $58 \mu\text{m}$ 、 $t: 6 \mu\text{m}$ ）に塗布した。

図 4 にペルオキシダーゼの塗布量を変化させた場合の、金属メッシュのディップ周波数の変化を示す。

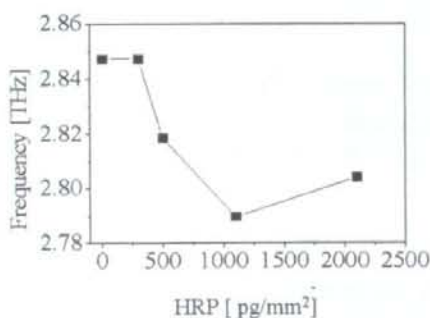


図 4 ディップ周波数のシフトの様子

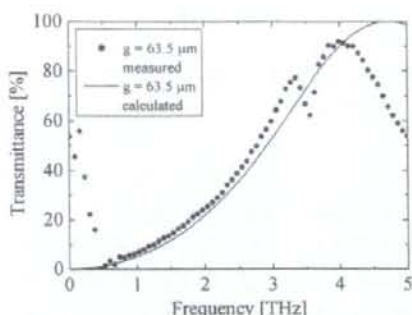


図 3 金属メッシュの透過率測定結果と文献をもとにした計算値の比較

そこで本実験では、生体高分子を直接金属メッシュ上に塗布し、その量に応じたディップ部の周波数のシフトを観測することとした。このとき、サンプルの定量的な塗布は本実験を行う上で重要な点である。インクジェットプリンタはすでに DNA の固定などに使用されており、微量な液滴を均一に塗布する上で優れた性能を持つ。そこで本実験では、金属メッシュにプリンタで直接ペルオキシダーゼを塗布し、FT-FIR にて透過スペクトルを測定した。

本図は、ディップ部分について Lorentz 関数を施し、近似曲線から求めたディップの周波数と塗布したペルオキシダーゼ量の関係を示している。300 pg/mm² のときは透過特性の変化は観察されなかったが、500 pg/mm² から 2100 pg/mm² の 3 段階の濃度で薄型金属メッシュ単体と比較して透過特性の低周波数側へのシフトが確認できた。1100 pg/mm² のときシフト量は最大になり、さらに濃度を上げてシフト量が増加しないことが観察された。2100 pg/mm² のときにディップ周波数が高周波側に移動した理由としては、塗布したペルオキシダーゼが不均一となったためと予想される。

4. 文化財修復への応用 — さまざまな絵画材料の分光スペクトル —

文化財の修復には、まず対象となる文化財の情報収集を行い、その結果を元に検討された最適な修復法が選択され行われている。また、学術的にも当時の顔料や展色材の分析が精力的に行われ、そこにはさまざまな化学分析的手法が導入されている。電磁波を用いた分析法としては、X 線や紫外、可視光、近赤から赤外まであらゆる手法が利用されている。しかしそれぞれには被曝による劣化や変質の問題やサンプリングによる破壊を要するなど、いくつかの問題を抱えている。そこで我々は、文化

財修復への THz 波の利用を目指し、100 種類以上のさまざまな顔料や展色材の分光スペクトルの測定を行った。

測定に用いた顔料は特殊な場合を除き Zecchi 社製で、テラヘルツ帯ではほとんど吸収のないプラスチック板にベトロールで溶いたものをサンプルピースとして作製した。その結果、例えば、白色顔料である Lead white と Titan white を比較すると、まったく異なる透過スペクトルが観察された (図 5)。白は 19 世紀に亜鉛化合物が作られるまでは鉛白が用いられ、最近になってチタン化合物が多く用いられるようになったことから、絵画が描かれた時代などを知る手がかりとなることが期待される。また、メーカーによっては体質材として用いられている炭酸カルシウムが混在していることも観測された。

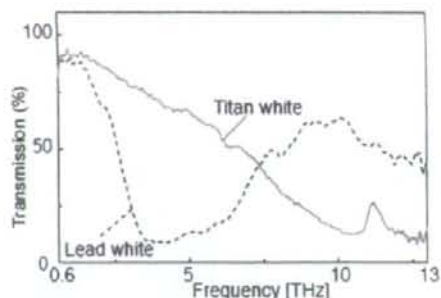


図 5 白色顔料の透過スペクトル

実際の修復前調査では、赤外線や紫外線での写真撮影が行なわれる。そこで直接比較しやすい THz スペクトルを、3 周波数領域に分割し、各領域に RGB の値を与える疑似カラー表示を導入した。図 6 は、既知の顔料で描いた絵を可視光と THz 波で透過観測した例である。人物に用いられている赤色は有機物由来の顔料で、背景は無機顔料である。このような違いが THz 帯の分光スペクトルを利用することで容易に判別できることが示された。



図 6 可視光画像と THz 波画像 (疑似カラー)

5. おわりに

本報で紹介した研究はいずれも可能性を示した段階で、今後更なる詳細な検討を必要とするものである。しかしこのような研究の中には、従来の電磁波では困難とされていた測定が THz 波を用いることで容易に行えるようになった例も存在する。これらは THz 波の発生、検出技術の向上と共に社会に広く役立つ技術になることが期待される。

謝辞

本研究の遂行にあたり、メンブレンアレイの作成には東北大学の及川雅人准教授、顔料、展色材サンプルの測定には情報通信研究機構の福永香主任研究員、THz-TDS イメージングシステムによる実験は、理化学研究所の大谷知行チームリーダーに御協力いただきました。名古屋大学エコトピア科学研究所の川瀬晃道教授、信州大学理学部の宮丸文章助教には金属メッシュのセンシングについて助言いただきました。深く感謝いたします。また、本研究の一部は、厚生労働省科学研究費補助金萌芽的先端医療技術推進研究事業よりサポートされました。

金属メッシュを用いた生体高分子の相互作用検出

川井泰英⁽¹⁾・吉田永⁽¹⁾・林朱⁽²⁾・林伸一郎⁽¹⁾⁽²⁾・宮丸文章⁽³⁾
 宮澤陽夫⁽¹⁾・川瀬晃道⁽¹⁾⁽²⁾⁽⁴⁾・小川雄一⁽¹⁾

(1)東北大院農、(2)理化学研究所、(3)信州大理学部物理、(4)名大エコトピア科学研

【目的と背景】抗原抗体反応を利用した免疫学的測定法（イムノアッセイ法）は、実験室だけでなく臨床検査の分野でも広く利用されている。メンブレン上のタンパク質の検出は主に標識抗体の特異的な結合により行われ、高感度な検出が行える反面、標識過程の操作が煩雑であり、長い検査時間を有するという問題点がある。本研究ではテラヘルツ (THz) 波と、薄い金属製のメッシュシートを組み合わせることで、タンパク質検出の基本原理である抗原抗体反応を非標識（ラベルフリー）で行う技術を確立し、その技術を利用した『生体高分子の相互作用検出』を実現することを目指している。

現在、タンパク質検出の方法として、メンブレン上にタンパク質を吸着・固定した上で免疫学的測定を行うという手法が広く用いられている。メンブレンとはタンパク質を吸着する性質を持つ高分子膜で、PVDF 製のものが一般的である。PVDF メンブレンは多孔質な形状をしており、テラヘルツ波帯において高い透過性を示す。

一方、古くから赤外領域で光学素子として利用されてきた金属メッシュは、開口近傍の複素屈折率の変化を透過特性の変化として高感度に検出する性質をもっている。メンブレンにタンパク質が吸着すると、メンブレンの間隙がタンパク質で埋まり、屈折率が大きくなる方向に変化する。本実験では、金属メッシュ（格子定数：76.3 μm, 線幅：18.3 μm, 厚み：6 μm）上にメンブレンを密着させ、そのメンブレンの複素屈折率の変化による透過特性の変化を観測することで、生体高分子の高感度な検出が可能であると考えた。

【方法と結果】生体高分子の相互作用検出を行うにあたり、そのモデルとして、ストレプトアビジン-ビオチン結合の検出を試みた。ストレプトアビジン-ビオチン結合は特異的で非共有結合でありながら、結合定数が $K_a=10^{15} \text{ M}^{-1}$ と非常に強固であることから、モデルサンプルに適していると考え使用した。測定には測定帯域をテラヘルツ帯に特化した FTIR を用いた。実験の結果ビオチン 6.5 ng/mm² (25 pmol) についてストレプトアビジン-ビオチン相互作用のラベルフリー検出が可能であることが明らかとなり、メンブレン上での pmol オーダーのタンパク質反応の検出が可能であることが示唆された。（図1）これは、物質の吸収による単純な透過測定では検出できない量であった。

また、本報ではインクジェットプリンタを用いた定量実験や、印刷によって作成した金属メッシュの諸特性についても報告する。

本研究の一部は、厚生労働省科学研究費補助金医療機器開発推進研究事業のサポートにより行われました。

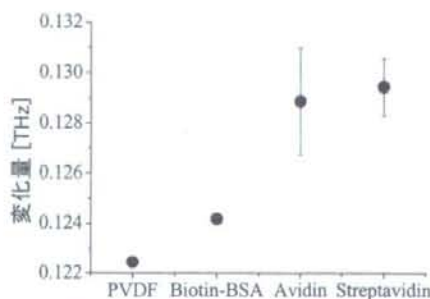


図1. 結合による透過特性の変化

金属メッシュによるタンパク質のラベルフリー検出

吉田 永* 川井 泰英* 林 伸一郎** 小川 雄一*

*東北大学大学院農学研究所 〒981-8555 宮城県仙台市青葉区堤通雨宮町 1-1

**理化学研究所 〒351-0198 埼玉県和光市広沢 2-1

E-mail: yoshida_h@bios.tohoku.ac.jp

あらまし 我々は次世代の分析ツールとして、テラヘルツ波と金属メッシュを組み合わせた新しいセンシング法の開発を行っている。このセンシング法は金属メッシュの透過スペクトルが、金属メッシュ上の試料の屈折率によって低周波数側にシフトすることを利用しており、この方法により現在標識物質を使用して行われているタンパク質の検出を非標識（ラベルフリー）で行うことが可能になる。

本研究ではまず酵素の一種であるペルオキシダーゼを試料としてこのセンシング法による検出を試みた。その結果ペルオキシダーゼ 500 pg/mm^2 (11 fmol) の検出が可能であった。このとき試料の塗布には市販のインクジェットプリンタを使用した。さらにタンパク質の固定に広く用いられているPVDFメンブレンと金属メッシュを組み合わせて、メンブレン上のタンパク質反応の検出を試みた。その結果ビオチン 650 pg/mm^2 (2.5 pmol) のストレプトアビジン-ビオチン反応の検出が可能であった。

キーワード ラベルフリー、金属メッシュ、メンブレン

Label-free detection of protein using a metallic mesh

Hisa YOSHIDA* Yasuhide KAWAI* Shin'ichiro HAYASHI** and Yuichi OGAWA*

*Graduate School of Agricultural Science, Tohoku University

1-1 Tsutsumidori, Amemiya, Aoba, Sendai, 981-8555 Japan

**Laser Technology laboratory, RIKEN, 2-1 Hirosawa, Wako, 351-0198 Japan

E-mail: yoshida_h@bios.tohoku.ac.jp

Abstract We propose a new label-free sensor of protein using a metallic mesh in THz region. Our sensing method relies on a change in the transmittance of THz radiation passed through the metallic mesh on which a sample substance is contacted.

By using this technique, we demonstrated the highly sensitive detection of the protein horseradish peroxidase, which is an oxidation/reduction enzyme that exists in many organisms. For quantitative investigation of the sensitivity of our sensor, the enzyme was printed on surface of the metallic mesh by a commercial printer. A distinct shift in the transmittance spectrum toward lower frequency was observed for 500 pg/mm^2 (11 fmol) enzyme printed on the metallic mesh. Next we demonstrated to detect a streptavidin-biotin interaction on a PVDF membrane which is generally used fixation of protein. The streptavidin-biotin interaction can be detected by using 650 pg/mm^2 (2.5 pmol) biotin. These results indicate that our sensing system has high sensitivity and we have successfully demonstrated a convenient sensing system by using a metallic mesh and a PVDF membrane.

Keyword label-free, metallic mesh, membrane

1. はじめに

テラヘルツ(THz)波帯には生体高分子の高次構造の変化に起因する吸収が存在するため、核酸やタンパク質などの生体高分子の検出に関する研究が進められている [1,2]。その中でも DNA は THz 波帯で 1 本鎖と 2 本鎖の屈折率と透過率が異なり、その違いを高感度で検出するという報告や、アビジン-ビオチン複合体の検出など、標識物質を用いないラベルフリー検出に関する研究が進められている [3,4]。現在、DNA やタンパク質の検出には標識物質が用いられており、高精度な測定が行える反面、高価な試薬や専門的な技術や知

識を必要とし、測定に時間がかかるという問題点がある。また、複雑な混合試料や弱い結合の場合には標識が行うことができない場面があり、ラベルフリー検出によりタンパク質検出の範囲が広がることが予想される。しかし、THz 波帯におけるラベルフリー検出の報告の多くは複雑な測定系を利用するために応用が難しいという問題点がある。このような背景において、我々は利便性が高くより実用的な方法として THz 波と金属メッシュを組み合わせた新しいセンシング法の開発を行っている。

1960 年代から格子状の開口を有する金属製のメッ

シュを遠赤外領域のバンドパスフィルタとして用いた研究が行われ、様々なメッシュの形状や開口サイズの周波数特性を明らかにされている [5, 6]。近年では金属加工技術の向上により微細な周期構造を安定的に作製することができるようになり、これらを用いた THz 帯の新しい光学素子や、センサの研究が行われている [7, 8, 9]。

本研究ではまず標識酵素として酵素抗体法などに広く用いられているペルオキシダーゼを使って金属メッシュによるタンパク質の検出を行った。金属メッシュによる検出は試料を均一に塗布することが重要であるため、試料の塗布には微量な液体を均一に印刷できる市販のインクジェットプリンターを使用した。さらに、タンパク質の固定に広く利用されている PVDF メンブレンと金属メッシュを組み合わせてメンブレン上のストレプトアビジン-ビオチン相互作用のラベルフリー検出を試みた。

2. 金属メッシュの基礎特性

本研究では、厚さ 6 μm 、グリット間隔(g)76.3 μm 、金属のライン幅(2a)18.3 μm の薄い金属メッシュをセンサ部材として利用している。このような薄型金属メッシュは、エレクトロフォーミング（電鍍）法によって様々なサイズのもの既に市販されている。赤外領域において、薄型金属メッシュの透過特性については古くから実験的な解析[6, 10]が行われ、機構的なパラメータと透過特性の関係が報告されている。また、開口の形状についても、正方形だけでなく円形や十字形などについても報告されている。

Fig. 1 に本研究で使用した薄型金属メッシュの透過スペクトルを示す。測定はフーリエ変換式赤外分光光度計（日本分光社製 Faris-1S）で行った。薄型金属メッシュには、集光された THz 波が入射する構成となっており、金属メッシュ表面でのスポットの直径は約 7 mm で、偏光は無偏光である。透過率のピークは 3.37 THz に観察され、透過率は金属メッシュの開口率(53%)を上回っている。この現象は表面プラズモンの共鳴励起によるものである。また、2.9 THz 付近において透過率が急激に減少するディップ（谷）がみられる。このようなディップは、平行光を入射したときには見られず、斜入射のときにのみ観察された。実験では、金属メッシュに集光された THz 波を入射した際の斜入射成分によって、透過スペクトルにディップが観測されたものと考えられる。

この金属メッシュにサンプルが付着すると、金属メッシュの開口近傍の屈折率が変化し、透過スペクトルが低周波側にシフトするという現象が起こる。

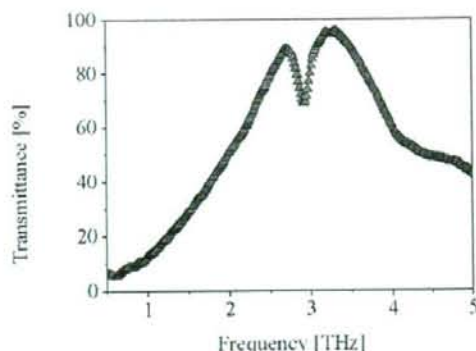


Fig.1 Measured transmission spectrum of a thin metallic mesh (grating period : 76.3 μm , metallic line width:18.3 μm)

金属メッシュのこのような性質をタンパク質を検出するセンサーとして利用し、特に本研究ではこの透過スペクトルのシフトをディップ位置を観察することで検出した。

3. 単一タンパク質の検出

標識酵素として広く用いられているペルオキシダーゼ（ナカライテスク株式会社 免疫化学用 凍結乾燥粉末）を滅菌蒸留水に溶解させ 1.0 mg/ml, 0.5 mg/ml, 0.25 mg/ml, 0.125 mg/ml の濃度に調製し、薄型金属メッシュ（g : 76.3 μm , t : 6 μm 材質：ニッケル）に塗布した。試料のペルオキシダーゼを均一かつ定量的に塗布するため、市販のインクジェット方式のプリンタ(Canon Pixus 860i)を使用し、画像処理ソフトで画面上の描画濃度を調整することでプリンタのインク吐出量を調整した。インクジェットプリンタはすでに DNA の固定などに使用されており、微量な液滴を均一に塗布する上で優れた性能を持つ[11]。Fig. 2 にペルオキシダーゼの塗布量を変化させたときの、金属メッシュの透過スペクトルのシフトをディップ位置で示す。またさらに Fig.3 にペルオキシダーゼ量と、Lorentz 関数による近似曲線から求めたディップの周波数との関係を示している。300 pg/mm^2 のときは透過特性の変化は観察されなかったが、500 pg/mm^2 から 2100 pg/mm^2 の 3 段階の濃度で薄型金属メッシュ単体と比較して透過特性の低周波数側へのシフトが確認できた。500 pg/mm^2 のペルオキシダーゼが検出されたことから、金属メッシュによるセンシング法は高い感度を備えていることが示された。

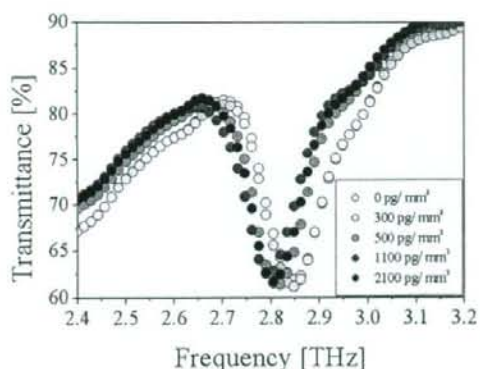


Fig. 2 Measured transmission spectra of metallic meshes with various concentrations of the horseradish peroxidase.

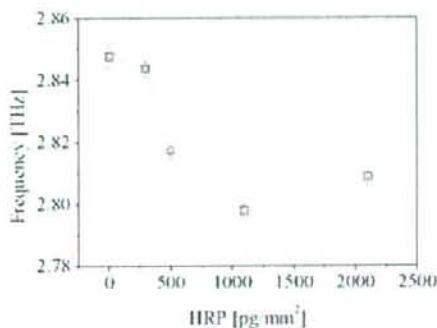


Fig. 3 The transmission dip frequency as a function of the horseradish peroxidase concentration.

また、1100 pg/mm²のときシフト量が最大になり、さらに濃度を上げてシフト量が増加しないことが観察されたが、これは今回使用したインクジェットプリンタはごく微量の試料を均一に塗布する性能に優れているが、試料が増加するに伴い不均一な塗布が起こることによるものと考えられる。今後更に広い濃度範囲で試料を均一に塗布する方法を検討する。

4. メンブレン上のタンパク質反応の検出

(ストレプトアビジン-ビオチン反応の検出)

卵白中に含まれるタンパク質であるアビジン (60 kDa) は、ビオチン (M.W. 250) と強固で不可逆的な結合 (解離定数 = 10^{-13}) 形成する。アビジン-ビオチン反応は 25°C、pH 5.0 の緩衝液中では速やかに反応し、その反応速度は $7 \times 10^{-7} \text{ M sec}^{-1}$ と報告されている [12]。

ウシ血清アルブミン (BSA) (Albumin bovine serum,

powder; SIGMA) にビオチン標識を施し (EZ-Link Sulfo-NHS-Biotinylation Kit; Pierce Biotechnology, Inc.)、PVDFメンブレン (Immun-Blot™ PVDF Membrane; Bio-Rad) を浸してメンブレン上に固定した。十分に乾燥させた後、0.1% BSA 溶液 (0.1% BSA 20 mM Tris, 500 mM NaCl, 0.05 % Tween-20, pH 7.5) 中でブロッキング処理を行った。その後緩衝液中 (20 mM Tris, 500 mM NaCl, 0.05 % Tween-20, pH 7.5) で洗浄した後、アビジンよりも安定的にビオチンと結合するストレプトアビジン (Streptavidin(rehydrated) 240 kDa; Bio-Rad) と反応させた。反応後緩衝液で洗浄し、最後に純水で洗浄し、乾燥後にフーリエ変換式赤外分光光度計 (日本分光社製 Faris-1S) で測定を行った。

Fig.4に Lorentz 関数による近似曲線から求めたディップの周波数と、ストレプトアビジン-ビオチン反応の関係を示している。金属メッシュのディップ周波数は PVDFメンブレンによって低周波数側にシフトする。さらに、ビオチン標識 BSA の定着後ブロッキング処理後の測定で低周波数側へのシフトが観察された。これはビオチンと主に BSA の付着に起因すると考えられる。さらにストレプトアビジンとの反応によって低周波数側へのシフトが観察された。

以上のことから、本研究のセンシング法によってビオチン 650 pg/mm² (2.5 pmol) におけるストレプトアビジン-ビオチン反応の検出が可能であることが分かった。これは従来の THz 波帯でのアビジン-ビオチン反応のラベルフリー検出報告と近いレベルの検出感度であり [4,13]、さらに金属メッシュの形状や厚さを変えることで高感度化が図れることから、今後実用化レベルへの感度の向上が期待できる。また、本研究の方法は、現在タンパク質の固定に広く使用されている PVDFメンブレンとの組み合わせが可能であることから、既存技術への応用が容易であり実用性の高い方法といえる。

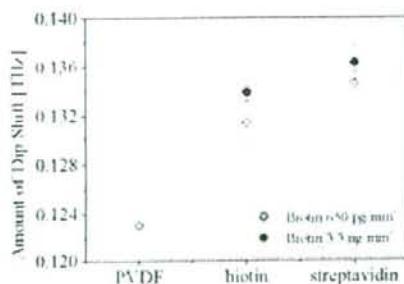


Fig. 4 The amount of dip shift frequency by the streptavidin-biotin interaction.

5.まとめ

本研究ではTHz波金属メッシュを組み合わせたセンシング法によって、タンパク質の検出を行った。その結果ペルオキシダーゼ 500 pg/mm² (11fmol) の検出が可能であり、本方法が高い感度を備えたセンシング法であることが示された。また、タンパク質の固定に広く使用されているPVDFメンブレンと組み合わせることにより、メンブレン上でビオチン 650 pg/mm² (2.5 pmol) についてストレプトアビジン-ビオチン反応が検出可能であり、これまでの報告よりもより汎用性の高い検出方法が示された。今後は本方法の高感度化を図ると共に、定量的な評価や抗原抗体反応の検出を行う予定である。

謝辞

本研究を進めるにあたり貴重な御指導と御助言をいただきました名古屋大学エコトピア科学研究所教授川瀬晃道先生及び信州大学理学部助教宮丸文章先生に深く感謝致します。

本研究は厚生労働省科学研究補助金による萌芽的先端医療技術推進研究事業の支援によって行われました。

文 献

- [1] A. Markelz, S. Whitmire, J. Hillebrecht, and R. Birge, *Phys. Med. Biol.* **49** 3798 (2002).
- [2] B. M. Ficher, M. Walther, and P. U. Jepsen, *Phys. Med. Biol.* **47** 3807 (2002).
- [3] M. Nagle, P. Haring Bolivar, M. Brucherseifer, and H. Kruz, *Appl. Phys. Lett.* **80** 154 (2002).
- [4] S. P. Mickan, A. Menikh, H. Liu, C. A. Mannella, R. MacColl, D. Abbott, A. Munch, and X-C Zhang, *Phys. Med. Biol.* **47** 3789 (2002).
- [5] R. Ulrich : *Infrared Physics* **7** (1967) 37
- [6] K. Sakai, T. Fukui, Y. Tsunawaki and H. Yoshigawa : *Jpn. J. Appl. Phys.* **8** (1969) 1046.
- [7] F. Miyamaru, T. Kondo, T. Nagashima, and M. Hangyo : *Appl. Phys. Lett.* **82** (2003) 2568.
- [8] F. Miyamaru and M. Hangyo : *Appl. Phys. Lett.* **84** (2004) 2742.
- [9] H. Cao and A. Nahata : *Opt. Express* **12** (2004) 1004.
- [10] R. Ulrich, K. F. Renk and L. Genzel : *IEEE Trans. Microwave Theory Tech.* **11** (1963) 363.
- [11] 小倉真哉, 山本伸子, *BIO INDUSTRY* **23** 23-28 (2006)
- [12] N. M. Green, *Biochem. J.* **89** 585 (1963)
- [13] A. Menikh, S. P. Mickan, H. Liu, R. MacColl and X-C. Zhang, *Biosensors and Bioelectronics* **20** 658 (2004)

農業応用に向けたテラヘルツ波研究

小川雄一*, 林伸一郎**(*東北大院農, **理研)

1. はじめに

農業分野では、消費者の嗜好や社会的な仕組みの変化に伴い、常にさまざまな新しい技術が必要とされている。近年では、食の安全・安心を守る技術の開発が急務であり、簡便かつ容易に分析できる安価な技術を目指した分析技術の研究が進んでいる。そのような背景において、テラヘルツ波は農業分野でもその特性を利用したさまざまな応用が期待されている。そこで本講演では、農業や食品分野への応用を目指した研究例として、我々が進めているシリコンロッドを用いた水溶液サンプルの分光分析への試みと、金属メッシュを用いた表面プラズモンセンサーによるアレルギー検査への応用を中心に紹介する。

2. シリコンロッドを用いた水溶液サンプルの分光分析への試み

食品や生体はそのほとんどが水溶液として存在している。例えば、近年機能性食品として着目を浴びているペプチドも、タンパク質から酵素を用いた加水分解により作り出されており、その効率的な生産には迅速かつ簡便な水溶液分析法が望まれている。そこで我々は、テラヘルツ波の食品分析分野での有効利用を目指し、ある条件でテラヘルツ波がシリコンロッドを伝播する際に生じるエバネッセント光を用いた水溶液サンプルの分析法を開発している。図1に本手法の原理検証用実験系を示す。

レーザー光などの電磁波を波長の数倍から数十倍程度の直径をもつ円形導波管に集光・入射させると、導波路内を、特性伝播モードを持って伝播する。この時

変換される伝播モードは、電磁波の入射位置と角度によって決まる。入射光のビーム径と導波路の大きさがほぼ等しく、最低次の伝播モード (EH₁₁) に変換されるとき、自由空間モードからの変換効率が最高となり、電磁波は導波管内を最も効率よく透過することができる。このような条件では、入射した電磁波は導波路表面で全反射しているため、導波路外側近傍に均一な近接場 (エバネッセント光) を発生させることが可能となる。このエバネッセント光と試料の相互作用により、導波路内を伝播する透過光強度が変化するため、入射光の波長を掃引すれば、透過光の強度変化から試料の分光情報が試料を透過することなく得られる。本報

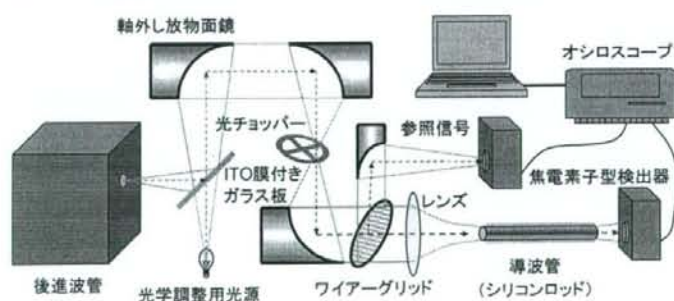


図1 原理検証実験系

では、D-グルコース水溶液を用いた透過光強度の水溶液濃度依存性などの測定結果について紹介する。

3. 金属メッシュを用いた表面プラズモンセンサーによるアレルゲン検査への応用

現在、食品分析の分野において、食肉や鮮魚のタンパク質やDNAといった生体高分子は分析のターゲットであり、食の安全・安心を守る上で偽装表示のチェックや産地特定、病原菌・アレルゲン検査など多くの場面で検査が行われるようになってきている。我々は、このような検査での利用を目指した金属メッシュを用いた生体高分子の相互作用検知に関する研究を行っている。金属メッシュは、エレクトロフォーミング（電鍍）法によって様々なサイズのものに既に市販されており入手が容易であり、本研究では約6 μm の厚みを持つ金属メッシュをセンサー部材として利用した。図2にFT-IRで測定を行なった金属メッシュの透過スペクトルと、赤外領域での実験的解析結果からUlrichらが導き出した計算手法を元に、金属メッシュの透過特性を計算した結果を示す。この金属メッシュは、グリッド間隔(g)が63.5 μm 、開口形状は四角形で、1辺が45 μm である。本測定を行ったFT-IRは、サンプルに対して集光光学系となっており、また、金属メッシュ表面でのスポットの直径は約5mmである。金属メッシュの開口サイズと波長が同程度の場合、透過率は開口率を上回っている。このような異常透過現象

は、表面プラズモンが金属表面に励起されるために起こる現象と考えられる。また、透過率が急激に減少するディップ(谷)がみられる。このようなディップが生じるメカニズムは十分に解明されていないが、テラヘルツ波が金属メッシュに対して斜入射の場合に観察され、斜入射の際に金属表面に励起された表面波のモードの分裂によって生じるものと考えられる。さらに、このような透過特性は、金属メッシュ上に

サンプルを載せた場合、その量に応じて低周波側へシフトする現象が観測される。この結果、先述の急峻なディップを利用することで高感度なセンシングが可能となる。本講演では、この技術と一般に生体高分子の分析で用いられているメンブレンフィルターを組み合わせ、アレルギー反応の基本反応となる抗原抗体反応の非標識分析などへの応用研究について紹介する。

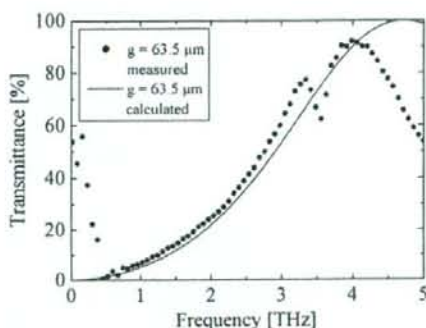


図2 金属メッシュの透過率測定結果と文献をもとにした計算値の比較

テラヘルツ波による農学研究 - 食品分析から創薬まで - Terahertz Research for Agriculture Science (from Food Analysis to Drug Discovery)

小川雄一^{*1} 林伸一郎^{*1,2} 吉田永^{*1} 程麗^{*1}
Yuichi Ogawa Shin'ichiro Hayashi Hisa Yoshida Li Cheng

^{*1} 東北大学大学院農学研究科
Graduate School of Agricultural Science, Tohoku Univ.
^{*2} 理化学研究所
RIKEN

1. はじめに

近年の目覚ましい技術革新により、実験室レベルで容易にテラヘルツ (THz) 波の研究を行える環境になっている。それに伴い、その応用を目指した研究も精力的に行われるようになり、欧米のみならず我が国でも先駆的な研究成果が報告されている。特に医療診断応用や医薬品検査応用に関してはヨーロッパを中心としたグループが研究を推進しており、皮膚ガンの診断や製薬の成分評価などが報告されている。一方、安全・安心分野においては、国内のテロ対策や違法薬物の非破壊探知技術などへの応用研究が進んでおり、日米が中心となって行われている。そのほか、半導体などの工業製品の検査など、さまざまな分野で応用可能性が示唆されているが、農業分野に関する研究はまだ始まったばかりである。

我々の研究グループでは、農業分野に注目した応用研究を進めている。農業分野では、病原性細菌による食中毒問題や、未登録農薬の違法使用発覚、牛肉問題に端を発する偽装表示問題など様々な事件が問題視されている。そのため、消費者からは安全性の証明を求める動きが活発化しており、国内外の食品や農産物に対して簡便かつ迅速な検査や分析手法が求められている。そこで本稿では、THz 波を用いたいくつかの食品分析への応用研究をはじめ、食の安全を評価するためのアレルギー検査技術への応用についても述べる。特にこのアレルギー検査技術は、従来タンパク質分析などで利用されていたメンブレンと呼ばれる高分子膜を、THz 波が透過できることを利用した分析法であり、このことを発展させるとハイスループットなタンパク質と小分子との相互作用解析ツールとしても利用可能であり、特に創薬分野では強力な分析ツールとなることが期待できる。

2. 食品の品質評価への応用

近年の生産規模の拡大と食の安全に対する意識向上を背景として、より迅速な検査への需要が高まっている。このことを受け、簡便で試薬を必要としない赤外・近赤外領域の電磁波を利用した分析手法が研究されてきた。この方法は分子内結合を観測するもので、生乳の成分分析では米国の公定法として認められているなど既に実用化がなされている。チーズは欧米では一般的な食材であり、品質評価に関しても幅広く研究が進められている。主成分である水分、タンパク質、脂質は THz 領域ではそれぞれ吸収の度合いが異なる。また、チーズには脂肪球やカゼインミセルなど数十 μm から数十 nm 程度の構造が存在する。そこで本研究では、THz 波によるチーズの分光測定と情報解析を目的と

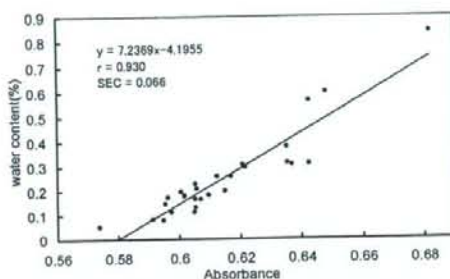


図1 カールフィッシャー法による分析結果と吸光度 (@ 50 cm^{-1}) の相関

し、分光スペクトルと成分含量や波長と同程度のタンパク質構造との関係について検討した。一連の実験結果から、タンパク質含量の増加に伴う吸光度の上昇、種類によるスペクトル形状の違いが確認された。種類を限定して行った透過測定からは、吸光度とタンパク質や脂質含量間にはっきりとした相関性が確認され、THz 分光を利用した定量分析技術の可能性が示唆された。

一方、食品中の水は、食品の品質や味、貯蔵、酵素活性、微生物の成長などに影響を与えるため、食品中の水分を測定することは重要な意味を持つことから現在までに様々な水分計測法が確立されている。食用油中の水分は加水分解の原因となるため、日本農林規格 (JAS) により水分量は 0.3% 以下であることが定められており、その水分量の測定法として JAS は有機溶剤を必要とする抜き取り検査によるカールフィッシャー法を定めている。一方、THz 帯において、油は水よりも高い透過性を示すことが知られている。そこで微量な水分を含む食用油について、FT-FIR を用いて透過測定を行い、既存のカールフィッシャー法と THz 帯の吸光度との相関を調べた。その実験結果を図 1 に示す。

本実験は光路長が 1 mm の石英セルを用いて透過測定を行っており、検量線の作成には、1.5 THz での吸光度を用いている。この結果、JAS により定められている 0.3% 以下の水分量においても相関が認められる。本技術は従来の有機溶剤や抜き取り検査を不要とし、容器越しの測定が可能であることから、今後品質管理のための食用油中の水分計測での応用が考えられる。

食品や生体はそのほとんどが水溶液として存在している。例えば、近年機能性食品として着目を浴びているペプチドも、タンパク質から酵素を用いた加水分解により作り出されており、その効率的な生産には迅速かつ簡便な水溶液分析法が望まれている。そこで我々は、THz 波の食品分析分野での有効利用を目指し、ある条件で THz 波がシリコンロ

ッドを伝播する際に生じるエバネッセント光を用いた水溶液サンプルの分析法を開発している。

レーザー光などの電磁波を波長の数倍から数十倍程度の直径をもつ円形導波管に集光・入射させると、導波路内、特性伝播モードを持って伝播する。この時変換される伝播モードは、電磁波の入射位置と角度によって決まる。入射光の波長と導波路の大きさがほぼ等しく、最低次の伝播モード (EH_{11}) に変換されるとき、自由空間モードからの変換効率が最高となり、電磁波は導波管内を最も効率よく透過することができる。このような条件では、入射した電磁波は導波路表面で全反射しているため、導波路外側近傍に均一な近接場 (エバネッセント光) を発生させることが可能となる。このエバネッセント光と試料の相互作用により、導波路内を伝播する透過光強度が変化するため、入射光の波長を掃引すれば、透過光の強度変化から試料の分光情報が試料を透過することなく得られる。本報では、D-グルコース水溶液を用いた透過光強度の水溶液濃度依存性などの測定結果について紹介する。

3. メンブレンを用いた生体高分子の分析

現在、食品分析の分野において、食肉や鮮魚のタンパク質や DNA といった生体高分子は分析のターゲットであり、食の安全・安心を守る上で偽装表示のチェックや産地特定、病原菌・アレルゲン検査など多くの場面で行われるようになっている。我々は、このような検査の利用を目指した金属メッシュを用いた生体高分子の相互作用検知に関する研究を行っている。

金属メッシュは、エレクトロフォーミング (電鍍) 法によって様々なサイズのものが既に市販されており入手が容易であり、本研究では約 $6 \mu\text{m}$ の厚みを持つ金属メッシュをセンサー部材として利用した。この金属メッシュは、グリッド間隔 (g) が $63.5 \mu\text{m}$ 、開口形状は四角形で、1辺が $45 \mu\text{m}$ である。本測定を行った FT-IR は、サンプルに対して集光光学系となっており、また、金属メッシュ表面でのスポットの直径は約 5mm である。金属メッシュの開口サイズと波長が同程度の場合、透過率は開口率を上回っている。このような異常透過現象は、表面プラズモンが金属表面に励起されるために起こる現象と考えられる。また、透過率が急激に減少するディップ (谷) がみられる。このようなディップが生じるメカニズムは十分に解明されていないが、THz 波が金属メッシュに対して斜入射の場合に観察され、斜入射の際に金属表面に励起された表面波のモードの分裂によって生じるものと考えられる。さらに、このような透過特性は、金属メッシュ上にサンプルを載せた場合、その量に応じて低周波側へシフトする現象が観測される。この結果、先述の急峻なディップを利用することで高感度なセンシングが可能となる。そこで我々は、従来タンパク質分析に利用されているメンブレンを利用し、この上で反応させた選択的な生体高分子の相互作用の非標識を試みた。

さらに、本手法を導入することで小分子とタンパク質の相互作用を非標識で分析することも可能となる。そのとき小分子のメンブレンへの固定化には、疎水性ポリエチレングリコールとのコンジュゲート化によって疎水性を与え、任意の小分子を強固に結合させる技術を用いた。これにより、反応や洗浄時に小分子が洗い流されてしまうことを防

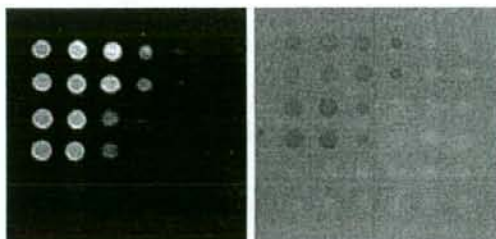


図2 THz 波による非標識分析結果 (左図)、従来法蛍光標識画像 (右図)

ぐとともに、小分子をランダムな分子配向でメンブレン上に存在させることができ、従来の固定化技術よりも高い反応性を持たせることが可能となっている。

ビオチンを小分子として用い、MPEG ならびに PEG でメンブレン上に固定化した。そのとき、ビオチンは $1 \times 10^3 \text{ M}$ から $3.2 \times 10^6 \text{ M}$ まで濃度を系統的に変化させて滴下した。以下、このように作成したサンプルをメンブレンアレイと呼ぶ。本実験では、このメンブレンアレイをストレプトアビジンと反応させ洗浄した後、THz-TDS をベースとしたイメージングシステムにて画像取得を行い、従来法である蛍光標識 (Alexa488) による分析結果との比較を行った。本手法では、ビオチンに対して高い選択性と結合能を持つストレプトアビジンがメンブレン上で結合することによる吸収量の違いから、吸光度の違いとして画像から結合の有無を判別できる。図2に THz 波による非標識分析結果と蛍光標識分析結果を示す。

生体反応にはペプチドのような分子量の小さい有機小分子が基質になる場合と、蛋白-蛋白相互作用に基づく場合とがあるが、最近の研究から、たとえ後者のような複雑な生体反応においても有機小分子による相互作用と効果的調節が可能であることがわかっている。しかしながら、そうした小分子を効率的に見出す汎用的な手法が未だ開発されていないため、標的タンパク質の機能を直接的に制御できる小分子は全体の 1% にとどまっていると言われている。原因の一つには、相互作用解析に何らかのラベル化 (蛍光や酵素など) が必要とされる点が挙げられる。本研究はこのような分析が必要となる創薬分野において強力なツールになりうることを期待できる。

4. おわりに

THz 波による応用研究は、セキュリティ検査や工業製品の検査、医療診断など多岐にわたる分野で進められている。しかしこれらの分野には極めて高い精度が要求される場合が多い。一方食品や農産物といったものを対象とした検査項目の中には、簡便で比較的大きな区分の階級分けが必要になる場合がある。意外にもこういった分析に対して既存技術では極めて困難で煩雑な作業を要する場面も多く、これこそが THz 波の面白い応用ターゲットとなりうると思われる。農業を対象にしたこのような分析手法が確立できると、THz 技術の向上に伴い、医療や工業、セキュリティなどへの波及につながることも期待できる。

2Ca12 金属メッシュによる牛乳中アレルギーのラベルフリー検出

○吉田 永¹, 川井 泰英¹, 林 伸一郎^{1,2}, 大谷 知行²,
川瀬 晃道^{3,2,1}, 小川 雄一¹
(¹東北大院・農・生物産業創成, ²理研, ³名大エコトピア科
学研)

現在、食品中のアレルギーの検出は、ウエスタンブロット法によって分離・転写され、標識二次抗体による検出によって行われている。このような標識抗体による検出法は、高感度な検出が行える反面、標識過程の操作が煩雑であり、長い検査時間を有するという問題点がある。通常食品中のアレルギーの表示は含有量に開わず表示が義務づけられているが、さらに簡便な検出方法があれば、食の安全を守る上で大変重要な技術となり得る。本研究ではテラヘルツ波と、薄い金属製のメッシュシートを組み合わせた新しいセンシング法によって、メンブレン上で反応させた抗原抗体反応を非標識(ラベルフリー)で行う技術を確認し、その技術を利用した「簡便なアレルギー検査」を実現することを目的としている。

これまでの結果から本方法による、メンブレン上のストレプトアビジン-ビオチン反応(ストレプトアビジン 330 ng/ml)のラベルフリー検出が可能であることが明らかとなっている。本研究ではさらに濃度を段階的に変化させたウシ血清アルブミン(BSA)水溶液をメンブレンに塗布し、本方法の定量的な評価を行った。その結果0.25 mg/ml濃度のBSA水溶液から濃度依存的な変化が観察された。講演ではさらにインクジェットプリンタを使って抗体を印刷したメンブレンを使用し、溶液中のalpha-カゼイン及びbeta-ラクトグロブリンを検出した結果についても報告する。

Label-free detection of allergen in milk using a metallic mesh

○Hisa YOSHIDA¹, Yasuhide KAWAI¹, Shin-ichiro HAYASHI^{1,2},
Chiko OTANI², Kodo KAWASE^{3,2,1}, Yuichi OGAWA¹
(¹Div. Biosci. Biotech. Future Bioind., Grad. Sch. Agric. Sci., Tohoku Univ., ²RIKEN, ³EcoTopia Science Institute, Nagoya Univ.)

Key words Label-free, Metallic Mesh, Membrane

2Ca14 耐熱性 L-アスパラギン酸脱水素酵素を用いる L-アスパラギン酸の新規電気化学的バイオセンシングシステム

○楠崎 陽友¹, 藤 尚壽², 米田 一成³, 櫻庭 春彦⁴, 大島 敏久⁵,
末 啓一朗¹
(¹福井大院・工・生応化, ²天津工大・材料化工, ³東海大・農・バイオサイエンス, ⁴香川大・農・応生, ⁵九大院・農・選育工)

【目的】L-アスパラギン酸(L-Asp)は、タンパク質構成成分やGOTのような窒素やエネルギー代謝の鍵酵素の基質として、重要な生理機能を有する。また輸液などの医薬品や調味料の原料、栄養剤や化粧品などのサプリメントとしても広く利用されている。それ故、その簡便なセンシングは非常に有用性が高い。本研究では L-Asp 定量法として、超好熱アーキア *Archaeoglobus fulgidus* 由来の耐熱性NAD-依存性L-アスパラギン酸脱水素酵素(L-AspDH)を用いる新規なL-Aspの電気化学的センサの開発を目的とした。

【方法及び結果】センサの生体触媒素子として組換え大腸菌から精製したL-AspDHを用いた。電解酸化重合によりカーボン電極上にメディアータである3,4-ジヒドロキシベンズアルデヒドを固定化し、L-AspDHとNAD⁺の存在下で+350 mV(vs. Ag/AgCl)の印加電圧をかけ、L-Aspを逐次添加し酸化電流の増大を測定した。その結果、L-Asp濃度が10~30 μMの範囲で直線的に電流の増大が確認された。現在、L-Asp センサとしての特性の評価及び実試料中での測定条件を検討している。

Novel L-Aspartate amperometric biosensor using thermostable L-Aspartate dehydrogenase

○Yosuke OKEZAKI¹, Haitao ZHENG², Kazunari YONEDA³,
Haruhiko SAKURABA⁴, Toshihisa OHSHIMA⁵, Shin-ichiro SUYE¹
(¹Dept. Appl. Chem. Biotechnol., Univ. Fukui, ²Tianjin Polytech. Univ., ³Dept. Biosci., Tokai Univ., ⁴Dept. Appl. Biol. Sci., Kagawa Univ., ⁵Dept. Genetic Eng., Kyushu Univ.)

Key words aspartate dehydrogenase, amperometric biosensor, thermostable enzyme

2Ca13 蛍光バイオセンシングのための新しいゾルゲル光導波路デバイスの構築

○牧島 央和¹, 福田 剛士¹, 榎波 康文², 末 啓一朗¹
(¹福井大院・工・生応化, ²Coll. Opt. Sci., Univ. Arizona)

【目的】蛍光タンパク質(GFP)は、生体内機能分子の働きや位置情報、検出等に利用されており、生体細胞内における種々の蛍光測定技術が開発されている。しかし、細胞からの蛍光観測を行う際、レーザやLED等を用いる蛍光顕微鏡や蛍光測定装置の蛍光強度は弱く、定量的な評価が困難である。本研究では、屈折率の異なる材料を線状に埋め込み加工することで、光を低損失にて導波可能な光導波路を蛍光検出デバイスとして応用し、細胞1個レベルでのタンパク動態や、外的な要因による蛍光量変化等の定量的検知を目指して、光センシング可能なデバイスの構築を行った。【方法・結果】細胞モデルとしてGFPを化学的に修飾したビーズを調整し、そのビーズをゾルゲルガラスと混合し光導波路上のコア部分にドープしたデバイスを作製した。光ファイバーを介して488 nmの励起光を光導波路に入射して蛍光測定を行ったところ、励起パワーに対する蛍光パワーは線形的な関係が得られた。また、ゾルゲル内部でのGFPは10日後で60%の蛍光パワーを維持可能であった。モデル実験により細胞数個レベルでの定量的な蛍光測定が可能であることが分かった。

Novel sol-gel optical waveguide for fluorescence biosensing device.

○Hirokazu MARUISHIMA¹, Takeshi FUKUDA¹, Yasufumi ENAMI²,
Shin-ichiro SUYE¹
(¹Dept. Appl. Chem. Biotechnol., Univ. Fukui, ²Coll. Opt. Sci., Univ. Arizona)

Key words Biosensing, Optical sensor, Sol-gel waveguide, GFP

2Ca15 *Rhodospseudomonas palustris* フィトエンデヒドロゲナーゼによる赤色カロテノイド合成を色調変化に利用したヒ素応答型微生物センサの開発

○吉田 一之¹, 井上 浩一¹, 高橋 優子¹, 上田 俊作¹,
磯田 勝広², 八木 清仁², 前田 勇¹
(¹宇都宮大農・応生, ²阪大院・薬)

我々は前大会で、光合成細菌 *Rhodospseudomonas palustris* no.7 のグリーンミュータントである *cr1* 破壊株およびレポーターであるフィトエンデヒドロゲナーゼ遺伝子 *cr1* がカロテノイド蓄積に伴う色調変化を引き起こす微生物センサの宿主・レポーター系として有用であることを報告した。今回、ヒ素応答性転写スイッチの下流に *cr1* を組み込んだセンサプラスミドを *cr1* 破壊株に導入し、ヒ素応答型微生物センサを樹立した。センサ株は10および50 μg/lの亜ヒ酸ナトリウム(As(III))に反応して赤色へ色調が変化し、24時間後に視認可能であった。リアルタイムRT-PCRによりAs(III)添加に伴う *cr1* mRNA発現を定量的に測定したところ、As(III)非添加群と比較して3時間後で3倍、6時間後で2.5倍の発現増加を示した。As(III)添加に伴うカロテノイド組成変化をHPLCにより比較した結果、As(III)非添加群では *Cr1* によって合成される赤色カロテノイドの含量が約2倍に増加していた。As(III)を添加してから24時間後の菌体の色をL*a*b*表色系により数値化したところ、As(III)非添加群と比較して緑・赤の成分を表すa*がマイナスからプラスにシフトしており、本センサが示すヒ素添加に伴う色調変化は寒色から暖色への変化であることが示された。本研究はNEDOの産業技術研究助成を受けて行われた。

A colorimetric whole-cell biosensor to detect arsenite based on the carotenogenic reaction by *Cr1* in *Rhodospseudomonas palustris*

○Kazuyuki YOSHIDA¹, Koichi INOUE¹, Yuko TAKAHASHI¹,
Shunsaku UEDA¹, Katsuhiko ISODA², Kiyohito YAGI², Isamu MAEDA¹
(¹Dept. Appl. Biochem., Utsunomiya Univ., ²Grad. Sch. Pharm. Sci., Osaka Univ.)

Key words carotenoid, *Rhodospseudomonas palustris*, Whole-cell biosensor, Arsenic

食の安全を守るためのテラヘルツ波技術

(東北大学大学院農学研究科¹, 理化学研究所²) ○小川雄一¹, 林伸一郎^{1,2}

[はじめに]

農産物や食品が生産され消費者の食卓に届くまでには、さまざまな検査が行われている。特に可視光や近赤外光などの電磁波を用いる方法は、扱いやすいデバイスが多いことや、非破壊で検査が可能であることから生産ラインに数多く導入され、人々の食の安全を守るために無くてはならない技術となっている。それ以外のX線、赤外光、マイクロ波などの電磁波についても多くの場面で利用され、その検査項目は多岐にわたる。そのような中、近年テラヘルツ波と呼ばれる電波と光波の間に位置する電磁波の技術革新が目覚ましい進歩を遂げている。この周波数領域は、発生や検出が難しかったことから、他の領域よりも応用開拓が遅れていたが、近年になって比較的簡便に利用できる技術が誕生し、世界中でその応用開拓が模索されている電磁波である。そこで本発表では、このテラヘルツ波を用いた食の安全を守る技術として、残留農薬検査に焦点を当て、分光スペクトルを利用した分析法と、微量計測に向けた高感度化技術の研究について紹介する。

[農薬の分光スペクトル]

テラヘルツ帯、特に周波数が0.3から10 THzの領域(波長に換算すると1,000から30 μm の領域)には、赤外吸収よりも弱いエネルギーに相当する吸収スペクトルが観測され、分子内および分子間の振動と緩和が共存している電磁波領域に相当する。そのため、組成は同じで構造の異なる物質や、わずかに構造が異なる物質は、スペクトル構造に大きな差異が観測される。これらの特徴を利用すると、物質の組成や官能基を詳細に調べることに適している赤外分光法とは違った用途が期待できる。筆者らはそのひとつが、迅速な農薬検査と考えている。図1に農薬の原体(薬効成分)の吸光度スペクトルの一例を示す。

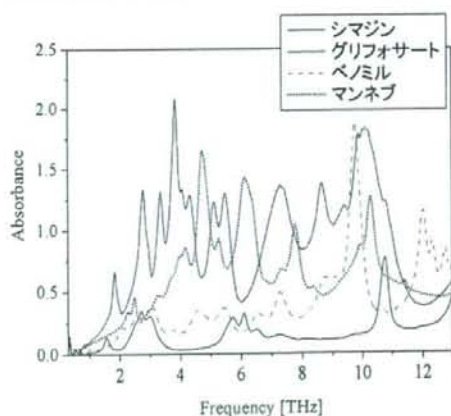


図1 4種類の農薬原体の吸光度スペクトル

テラヘルツ帯に存在する水の大きな吸収の問題を克服できると同時に、従来の化学分析法よりも簡便かつ迅速な分析を可能とし、時間を要する検査の前の簡便なスクリーニング技術としても利用できることが期待できる。

このように、農薬はテラヘルツ帯で物質固有の吸収スペクトルが観測される。あらかじめこのようなスペクトルのデータベースを作成し、測定した結果と照合することによって、農薬の種類や量を知ることが可能となる。また、テラヘルツ波は紙やプラスチックなどに対して透過性が高いことを利用すると、これらで農産物からふき取ったものや、農産物表層から抽出したサンプル液をこれらに滴下した後に乾燥させ、そこに残された農薬の存在の有無を調べることが可能となる。このような分析手法は、

[高感度化のための試み]

農産物の検査対象となる農薬の量は、ppm から ppb オーダーとなる。現在、平成 18 年から実施されているポジティブリスト制度で残留基準が設定されている農薬は約 800 種類におよび、さらにこれとは別に人の健康を損なうおそれのある農薬には、一定量の 0.01 ppm を超えて残留する食品の販売を禁止することとなっている。例えば、1 kg 中の 0.01 ppm は 10 μg に相当する量であり、この量を FT-IR など市販の分光器で分光分析することは困難である。そこで我々は金属メッシュ上に局在化された電場増強効果を利用した高感度計測法の検討を進めている。

金属メッシュは、エレクトロフォーミング（電鍍）法によって様々なサイズのものに既に市販されており入手が容易である。本研究では約 6 μm の厚みを持つ金属メッシュをセンサー部材として利用した。このような金属メッシュの透過特性は、赤外領域において古くから実験的な解析が行われ、機構的なパラメータと透過特性の関係が報告されている。

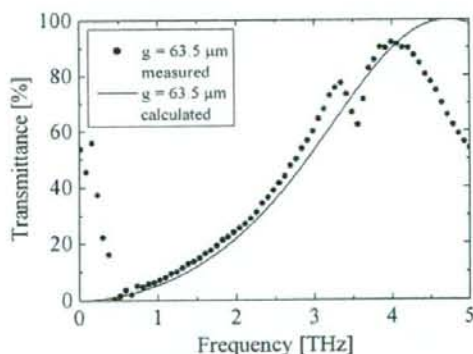


図2 金属メッシュの透過率測定結果と文献をもとにした計算値の比較

図2に FT-IR で測定を行なった金属メッシュの透過スペクトルと、赤外領域での実験的解析結果から導き出された計算手法を元に、金属メッシュの透過特性を計算した結果を示す。この金属メッシュは、グリッド間隔 (g) が 63.5 μm 、開口形状は四角形で、1 辺が 45 μm である。金属メッシュの開口サイズと波長が同程度の場合、透過率は開口率を上回っている。このような異常透過現象は、表面プラズモンが金属表面に励起されるために起こる現象と考えられ、電磁界シミュレーションの結果、金属メッシュ表面や開口部には局在した電場増強効果が確認されている。

このような透過特性は、金属メッシュ上にサンプルを載せた場合、その量に応じて透過率が減少しながら低周波側へシフトする様子が観測される。このときの透過率変化は、透過測定の結果よりも大きく、低周波側へのシフトは屈折率に応じて変化することが解析の結果から明らかとなっている。

本発表では、金属メッシュを使った高感度センシングに関する解析結果や実験を示し、農薬分析への応用に対する展望について報告する。