

No.7 Nov. 2016

**FEATURE STORY**

# Applying Micro-Electro-Mechanical Systems (MEMS) to medicine and drug discovery

Professor Takayuki Shibata is developing various devices for manipulating individual cells and analyzing cellular functions using Micro-Electro-Mechanical Systems (MEMS).



## Research Highlights : Special Issue of “Food Security and Safety”

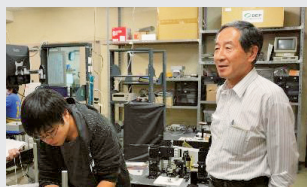


Preface of the Special Issue.....5

Toyohashi University of Technology leads the development of technologies for “Food Security and Safety”



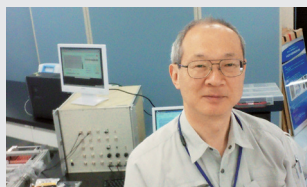
Simple operation for detecting residual pesticides in agricultural products anytime anywhere .....6



Near-infrared (NIR) optical imaging system for detecting small organic objects in thick foods .....7



Development of three channel SQUIDS contaminant detector for food inspection ..... 8

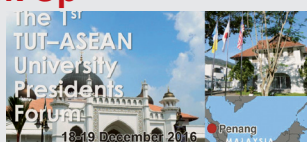


Food contaminant detector using Ultrasound ..... 10



Rapid and sensitive bacteria detection using microcolony method combining a fluorescent staining technique and a bioimaging system ..... 11

## Pick Up



Toyohashi University of Technology hosts the 1st TUT – ASEAN University Presidents Forum ..... 16

# Applying Micro-Electro-Mechanical Systems (MEMS) to medicine and drug discovery

Takayuki Shibata



Professor Takayuki Shibata is developing various devices for manipulating individual cells and analyzing cellular functions using Micro-Electro-Mechanical Systems (MEMS). Professor Shibata aims to apply MEMS to advanced medicine and drug discovery by constructing a platform that enables the diagnosis of individual cells as well as the regulation of cellular functions.

*Interview and report by Madoka Tainaka*

## A micro device working on individual cells

Micro-Electro-Mechanical Systems (MEMS) refers to the technology whereby micro-machining technology is used to fabricate miniaturized devices that integrate electrical and mechanical elements. MEMS came under the spotlight in 1987 when AT&T Bell Laboratories introduced micro gears with diameters ranging from 125 to 185 $\mu\text{m}$  at an international conference called Transducers held in Tokyo. Thereafter, the research and development of MEMS has been mainly led by the U.S., Europe, and Japan by using advanced micromachining technology that was developed from semiconductor technology. Nowadays, MEMS technology is used in various devices including acceleration sensors in automobile air bags and smart phones, the inkjet nozzle of printers, the mirror and switch of optic devices and analysis equipment in the field of life sciences.

"Great expectations are placed on MEMS to become a key technology for innovation since its range of potential applications is quite broad. On the other hand, the MEMS technology demanded by each field is different, and therefore MEMS research is progressing in various unique ways adapted to suit the needs of each field. Although we talk about MEMS in general, it actually represents quite diverse fields, and is also

constantly evolving through trial and error," says Professor Takayuki Shibata.

Professor Shibata is applying cutting edge MEMS based research to construct very tiny tools that work on a biological cell, which is the smallest unit of life.

"The size of a cell is only 10 to 20 $\mu\text{m}$ . Up to now there have been no tools that could handle both individual cells and all the cells at once. If our technology is put into practice, we expect that researchers will be able to control and analyze a large number of cells simultaneously, leading to new findings in life science. Not only that, we would be happy if our technology can contribute to facilitating an acceleration in the process of drug discovery and medicine," Professor Shibata says.

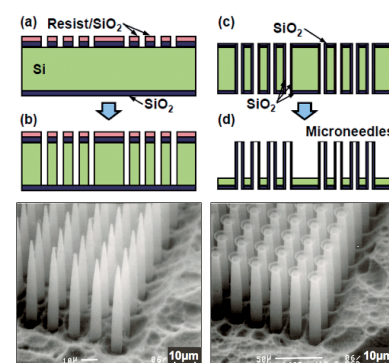
The applications of MEMS in the medical field have mushroomed since the complete decipherment of the human genome in 2003. More recently their practical implementations have been increasing. In this context, Professor Shibata has received attention by developing a microneedle array for pricking cells - 600,000 pcs of tiny hollow needles made of glass with an outer diameter of 5.6 $\mu\text{m}$  and an inner diameter of 3.2 $\mu\text{m}$  arrayed on a 1 $\text{cm}^2$  size microchip.

"This needle array is an innovative device that can simultaneously introduce DNA

molecules and extract biomolecules into and from 600,000 individual cells. Conventional methods for cell analysis can only provide information on the average value of all the cells since their analysis equipment checks all cell fracture extracts in a large quantity. On the other hand, if we can work on individual living cells in the scale of one million and analyze them, highly accurate statistical analysis will become possible, even as far as understanding the individuality of each cell. Furthermore, since the diameter and spacing of the needles is adjustable in MEMS, we can create various designs depending on its application."

## Using electrical driving force and mechanical oscillation to introduce DNA into cells

To fabricate a needle array, one must first make a circular pattern on silicon substrate using a method known as photolithography





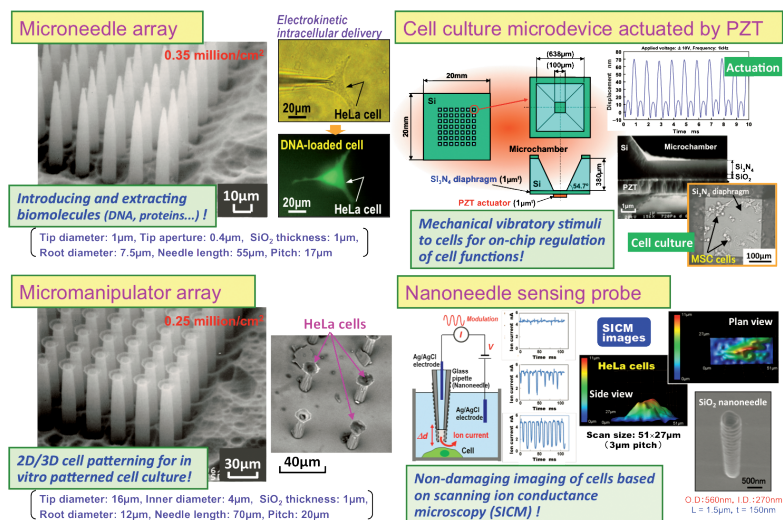
and then vertically etch fine holes into the substrate. The next step is to make them react with the water and silicon by exposing them to high temperature steam at 1000°C to form a glass film ( $\text{SiO}_2$ ) in the inner wall of the hole. Finally it is necessary to remove the silicon using an alkaline solution to create a minute glass needle.

"This technology is used in the manufacturing of semiconductors, and the location, shape, height and aperture of the needles can be freely modified. Using these characteristics, we can make even thinner needles or a type of tube with its tips spread out like an octopus's suction cup. Actually, the suction cup tube was created by accident, but once I observed it I realized that it could be used as a manipulator for creating desirable cell patterns and three-dimensional structures by grabbing cells and lining them up freely," Professor Shibata explains.

If this technology can work on individual cells, the biochemical reaction of a large number of cells under the same conditions can be observed. This technology can also be applied to comprehensively study the differences in reaction based on variations in the conditions. Much is expected of its potential applications in regenerative medicine and genome drug discovery. However, there still exists one significant obstacle - it is very difficult to prick a small cell with a needle without causing any deformation.

"Cells are very small and delicate, so if we try to forcibly prick one with a needle, its cellular membrane may be punctured and destroyed, and the cell would eventually die. You might have seen a microscopic image of pricking an egg cell with a glass needle in IVF (In Vitro Fertilization), but almost all types of cells (so-called somatic cells) that make up our body are only one tenth of the size of the egg cell so it is very difficult to prick them by sucking with a needle under negative hydrostatic pressure. In addition, if you try to introduce a solution into an array of needles by the application of external pressure, but the aperture of needle is too small, the solution would seek whichever individual needle offered the least hydraulic resistance, and only be released from that point. No matter how sophisticated our needle processing, it is impossible to fabricate all needles to precisely the same size."

To address this problem, Professor Shibata adopted a method using an electric field and mechanical oscillations when



A chip-based platform for massively parallel manipulation and analysis of single cells

penetrating cell membranes and introducing DNA into a cell with a needle. DNA is negatively charged in a solution so if the potential inside the cell is rendered positive by applying appropriate voltage, DNA can be injected into the cell through the tip of the needle. Furthermore, it becomes easier to penetrate cell membranes without causing serious cell damage when mechanical oscillation is applied during the insertion process with a needle. This is due to an increase in the cell's viscous resistance.

"Think about the suspension in automobiles. It is mechanically composed of a combination of springs and dampers. Springs can be deformed proportional to the applied force. On the other hand, dampers can also be deformed when pressed slowly just like the spring; however, if the damper is pressed quickly, it becomes hard and difficult to deform. It becomes easier to penetrate a cell with a needle, as with the damper, when one applies oscillations to quickly deform its cell membrane. This technology was made possible by applying my knowledge acquired from mechanical engineering and cell-capture, in other words by understanding its mechanical characteristics."

### Application to mass production of iPS cells and genome editing

Moreover, Professor Shibata is aiming to construct a platform for analyzing and manipulating cells by handling various technologies such as hollow microneedle arrays, suction cup type manipulator arrays, piezoelectric type micro cell medium devices, nanoneedle-based sensing probes for capturing dynamic changes of cells, and multi-functional scanning bio-probe microscope with hollow nanoneedle.

"At this point, we are only preparing the necessary tools for analyzing and ma-

nipulating cells, but we want to apply these technologies for the mass production of iPS cells in the future. Currently, iPS cells are made manually by skilled personnel, but the success rate of creating iPS cells is only 1%, which is very low in efficiency. If we can use our needle array to establish automatic mass production of iPS cells, the application of iPS cells will progress even further, and it will become more convenient to elucidate the mechanisms of diseases and to study the effects and toxicity of various drugs."

Professor Shibata says that he wants to accelerate the process of finding practical applications for his work by collaborating with medical institutions. His will continue to strive to develop fundamental technologies for advanced medical research.

### [Reporter's Note]

Professor Shibata, as a former researcher in precision engineering, used to produce diamond thin films and three-dimensional structures for use in devices. In the meantime, he became interested in the mystery of life and turned to the field of BioMEMS research after being involved with the production of microchips for amplifying DNA and analyzing blood. He feels that it is his mission to apply the technologies that he learned in the field of manufacturing, where reproducibility is emphasized, to the progress of life science.

"It is not well known but Toyohashi University of Technology has the one of the best cleanrooms in the world. I am very fortunate therefore to enjoy a research environment which is not only optimum for creating MEMS, but is also supported in such a way that active collaboration with researchers in different fields is made easy. As it happens, my interest in the mass production of iPS cells emerged from a conversation with a researcher in a different field," Professor Shibata says. It is greatly hoped that this MEMS technology, originating from Toyohashi, will contribute to rapid advancements in medicine and drugs around the world.

## 微細加工技術 (MEMS) を医療や創薬へ役立てる

MEMS (Micro Electro Mechanical System=マイクロ電子機械システム) を活用して、一つひとつの細胞を操作したり、細胞の機能を解析したりするためのさまざまなデバイスの開発を手がける柴田隆行教授。MEMSにより個々の細胞の診断や機能の制御を可能にするプラットフォームを構築し、先端医療や創薬に役立てたいという。

### ■ 一つひとつの細胞に作用する微小なデバイス

MEMS (Micro Electro Mechanical System) とは、微細加工でつくられる超小型の電子機械のこと。1987年に東京で開催されたトランスデューサーという国際会議において、AT&Tベル研究所が直径125~185  $\mu\text{m}$ ほどのマイクロ歯車を発表したのを機に、脚光を浴びるようになった。以後、半導体技術で培った微細加工を得意とする欧米や日本を中心に研究開発が進められ、いまやMEMSは、自動車のエアバックやスマートフォンに搭載されている加速度センサをはじめ、プリンターのインクジェットノズル、光デバイスのミラーやスイッチ、生命科学分野の分析装置など、じつにさまざまな機器に使われている。

「それだけMEMSは応用の幅が広く、イノベーションのキーテクノロジーとして大きな期待が寄せられているのです。一方で、分野ごとに求められるMEMS技術は違っていて、それぞれ独自のアイデアで研究が進められています。つまり、一言でMEMSと言ってもじつに多彩で、それぞれ試行錯誤を重ねながら進化しているのです」と柴田隆行教授。

その柴田教授が取り組むのは、MEMSを活用して、生命の最小単位である細胞に働きかけるための極めて小さな道具をつくるという、じつに先進的な研究である。「細胞の大きさは10~20  $\mu\text{m}$ ほどしかなく、これまで一つひとつの細胞に作用し、かつ、たくさんの細胞をいっぺんに扱うような道具というのは存在しませんでした。これが実現すると、多数の細胞を同時に操作したり分析したりすることが可能になり、生命科学の新しい発見につながると期待しています。ひいては、創薬や医学の飛躍的な進展に貢献できれば嬉しいですね」と柴田教授は語る。

MEMSの医療分野への応用は、2003年にヒトゲノムの完全解読を受けて本格化し、まさにいま、実用化に向けて競争が加熱している。そうした中、柴田教授は、ガラスでつくった外径5.6  $\mu\text{m}$ 、内径3.2  $\mu\text{m}$ という微細な中空の針を、1  $\mu\text{m}$ のマイクロチップ上に60万本も並べた細胞穿刺用のナノニードルアレイを開発して注目されているのだ。

「このニードルアレイは、一度に60万個の細胞それぞれからDNAを取り出したり、溶液を注入したりできる画期的なデバイスです。これまでの細胞分析というと、大量の細胞を破碎して抽出した物質をチェックしていますので、それでは細胞全体の平均値しか得られません。これに対して、100万個単位の生きた細胞一つひとつに働きかけ、分析できれば、細胞の個性までも理解した精度の高い統計処理が可能になる。しかも、MEMSでは針の太さや間隔を自在に変えられるので、用途に合わせてさまざまなデザインすることが可能なのです」。

### ■ 電場駆動力と振動で、細胞へDNAを注入する

ニードルアレイを作製するには、まずシリコンの板にフォトリソグラフィという方法で円形のパターンをつくり、エッチングにより微細な穴を垂直に深堀りする。その後、1000度ほどの高温の水蒸気にさらすことで水とシリコンを反応させ、穴の内壁にガラスの膜 ( $\text{SiO}_2$ ) を形成。最後に、アルカリ溶液を用いて、Siだけを除去することでガラス製の微細な針を作製するのだという。

「これは、半導体の製造に採用されている技術で、自在に場所や形、高さ、開口部の大きさなどを変えることができます。こうした特性を生かして、より細い針をつくったり、タコの吸盤のように先端が横に広がったタイプのチューブを作製したりしています。じつは吸盤タイプのもは失敗の産物なのですが、細胞をつかんで自在に並べることで、目的とする細胞のパターンや立体構造をつくるマニピュレータとして使えるとひらめきました」と柴田教授は言う。

無数の細胞に、一つひとつ働きかけることができれば、同じ条件下で大量の細胞の反応を見ることができ、網羅的に条件を変えて反応の違いを調べるといった実験にも活用できるとして、再生医療やゲノム創薬などへの応用に期待が高まる。しかし、課題もある。微細な細胞に針を刺すのは、それほど簡単ではないのだ。

「じつは細胞は小さく繊細なので、無理に針を刺そうとすると細胞膜が破れたり潰れたりして、死んでしまうんですね。人工授精などの際に、卵細胞にガラスの針を刺す顕微鏡の映像をご覧になったことがあると思いますが、私たちの身体をつくっている通常の細胞は卵細胞の10分の1ほどの大きさしかなく、針をそのまま押し付けて刺すのは困難です。しかも、針が細すぎると圧力をかけて溶液を注入したくても、一番抵抗の低い針からしか出ない。いくら精密に加工をしても、すべての針の大きさを完璧に揃えるのは不可能ですからね」。

ここで柴田教授が採用したのが、針を刺す際に電場と振動を利用するという方法だ。溶液に入れたDNA分子は負の電荷を帯びているため、細胞側がプラスになるように電圧をかけてやると針先から細胞内にDNAが導入できるようになる。さらに、針の先端を細胞に少し押し込んだ状態で、ごく微小な振動をかけて細胞膜にかかる応力をコントロールしてやると、針が細胞を押しつぶすことなく、生きたままの状態ですすことができるという。

「車のサスペンションをご存知ですよね。機械要素としてバネとダンパーが組み合わされたものです。バネは力を加えるとその大きさに比例して変形し

ます。一方、ダンパーはゆっくり押すとバネと同じように変形しますが、速く押そうとすると変形しにくくなり硬くなります。細胞もこのダンパーのように振動をかけて細胞膜を速く変形させようとするすると硬くなり、針が刺しやすくなるという原理です。機械工学で学んだ知見を生かし、細胞を材料として捉えて、その機械的性質を理解することで実現した技術です」

### ■ iPS細胞の量産化やゲノム編集へ活用

さらに柴田教授は、こうしたマイクロの中空のニードルアレイや吸盤型のマニピュレータアレイ、圧電駆動型のマイクロ細胞培養デバイス、細胞の動的形態変化などを捉えるナノニードル計測プローブ、さらには中空ニードルを応用した多機能走査型バイオプローブ顕微鏡など、さまざまな技術を取り揃えることで、細胞の分析・操作のためのプラットフォームづくりを目指している。

「現段階では、細胞の分析・操作に必要な道具を揃えているところですが、将来的にはiPS細胞の量産化にこの技術を役立てたいと考えています。というのも、現状はiPS細胞の作製は熟練者が手作業で行っているのですが、その方法では、iPS細胞として樹立するのは1%程度と効率が悪いのです。ニードルアレイを使ってiPS細胞を自動的に量産できれば、iPS細胞の活用が進み、疾患のメカニズムを解明したり、薬の効能や毒性を調べたりといったことが、もっと手軽にできるようになるでしょう」

今後は医療機関との共同研究を進め、実用化に向けて研究を加速させていくという柴田教授。先端の医療研究の基盤技術の構築に向けた挑戦は続く。

取材・文=田井中麻都佳

### 取材後記

もともと柴田教授は、精密工学の研究者として、デバイスへの応用を念頭に、ダイヤモンドの薄膜や立体構造の製作を手がけていた。一方で、以前から生命の不思議に興味を持ち、留学先の英国やスイスで、DNAを増殖したり血液を分析したりするマイクロチップの作製に携わったことから、バイオMEMSの研究へ転向。再現性を重視するモノづくりの世界で培った技術力を、生命科学の発展に生かすことが自らの使命だと感じている。

「じつは豊橋技科大には、世界でも有数のクリーンルームがあり、MEMSの作製においてこれほど恵まれた環境はありません。しかも、異分野の研究者との交流も盛んで、コラボレーションがしやすい。じつはiPS細胞の量産化の話も、そうした異分野の研究者との交流から始まったんですよ」と柴田教授。この豊橋から、医療や医薬を飛躍的に進展させるようなMEMS技術が花開くことに大いに期待したい。

### Researcher Profile

**Dr. Takayuki Shibata** received the BS, MS, and PhD. degrees in precision engineering from Hokkaido University, Sapporo, Japan, in 1987, 1989, and 1999, respectively. Following two years with Sumitomo Electric Industries, Ltd., he was with the Faculty of Engineering, Hokkaido University, from 1991 to 2001, and the Faculty of Engineering, Ibaraki University, from 2001 to 2005. Since 2005, he has joined the Faculty of Engineering, Toyohashi University of Technology. He is currently working as a professor in the Department of Mechanical Engineering, Toyohashi University of Technology, from 2007.



### Reporter Profile

**Madoka Tainaka** is a freelance editor, writer and interpreter. She graduated in Law from Chuo University, Japan. She served as a chief editor of "Nature Interface" magazine, a committee for the promotion of Information and Science Technology at MEXT (Ministry of Education, Culture, Sports, Science and Technology).





## Preface of the Special Issue

Toyohashi University of Technology leads the development of technologies for “Food Security and Safety”

By Saburo Tanaka

At Toyohashi University of Technology (TUT), I had been leading the development of a metallic contaminant detector using a high-sensitivity magnetic sensor since 2000, and we had the accumulation of ten years of technical expertise in food contaminant detection. Professors Seiji Iwasa, Mitsuo Fukuda, Naohiro Hozumi, and Shigeki Nakauchi also had the core “seeds” for the research of biological, near-infrared, ultrasonic, and optical analysis methods, respectively. By drawing on these seeds and accumulated expertise, TUT began to consider a project proposal in collaboration with other universities and public research institutes. At that time, the Aichi prefectural government was inviting applications for funding categorized as “The Knowledge Hub Aichi Priority Research Projects” (<http://www.chinokiyoten.pref.aichi.jp/English/>). These projects would run for five years from fiscal 2011, and be large-scale projects with an annual research cost of 300 to 400 million yen for each project. Accordingly, we put together a proposal for the “Food Security and Safety Technology Development Project”, and applied. Having been successfully selected by the prefectural government, this project was launched.



Being accorded the privilege of heading the project as its leader, it was my responsibility to oversee the carrying out of research in participation with another 10 universities, 5 public research institutes and 12 companies. As shown in the figure below, the Project set its goal as being the development of systems that can detect three types of contaminants with high accuracy, high speed and at a low cost:

- (1) detection of chemical substances such as residual agrochemicals
- (2) detection of solid contaminants such as hairs or metals
- (3) detection of microorganisms such as O157

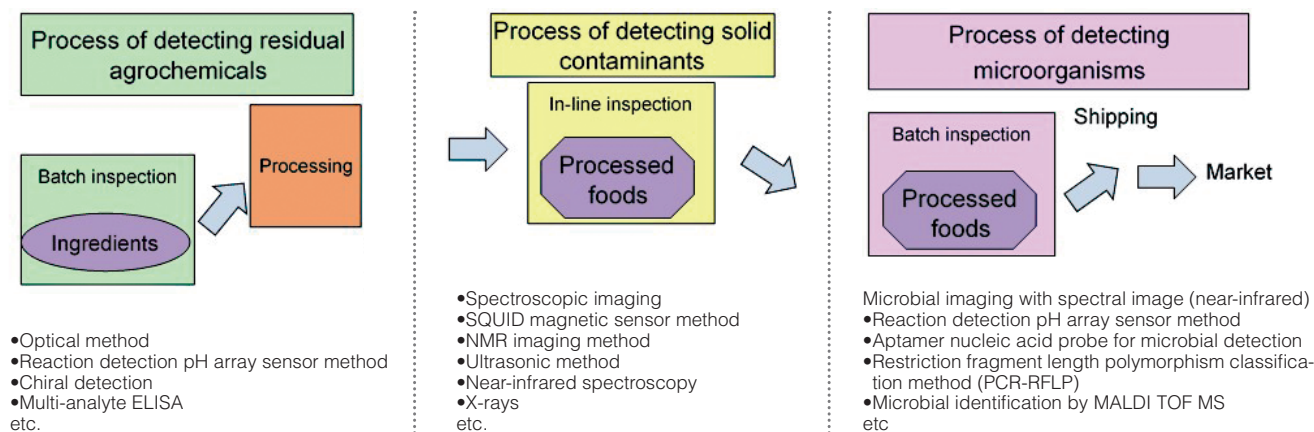
Many companies joined along the way, and in the final year of the Project, a

total of 36 companies were participating in it; 16 companies developed prototypes and 20 companies (user companies) contributed information, thereby re-classifying it as a mega project. This project consisted of goal-oriented, or “Pasteur-type” research, which aimed for commercialization based on the needs of society, and we were required to yield definite results. As it turned out, the project successfully concluded with numerous positive results: 31 prototypes, 8 commercialized products, 4 soon-to-be-commercialized products and 14 products to be made commercially available within the next two to three years.

Each technology TUT contributed is described hereafter by the development leader:

- Prof. Seiji Iwasa: Detection of toxic chemical substances using immunoassay
- Prof. Mitsuo Fukuda: Contaminant detection technology using near-infrared (NIR)
- Prof. Saburo Tanaka: Contaminant detection technology using superconducting quantum interference devices (SQUIDs)
- Prof. Naohiro Hozumi: Contaminant detection technology using ultrasound
- Prof. Shigeki Nakauchi: Development of a high-sensitivity sensor device for microbial detection

All research listed in this Research Highlights was supported by the Aichi Science & Technology Foundation.



Overview of Food Safety and Security Technology Development Project using Next-Generation Monitoring Technologies

# Simple operation for detecting residual pesticides in agricultural products anytime anywhere

By Seiji Iwasa

Prof. Iwasa's research group (S. Iwasa, Toyohashi University of Technology; S. Miyake, Advanced Scientific Technology & Management Research Institute of Kyoto, Research & Development Division, Horiba, Ltd.; T. Ohtake, Aichi Agricultural Research Center; K. Adachi and S. Saito, Aichi Science & Technology Foundation) has established immuochromatography kits and an immunosensor based on surface plasmon resonance (SPR-sensor) for the detection of residual pesticides in agricultural products. Immuochromatography kits were found to be a rapid, highly sensitive and low cost method for residual pesticide determination. SPR-sensors could detect more than 6 different types of pesticide at the same time. The working sensitivity of these methods was up to the level of 10ng/mL. These methods can be applied to the safety control of agricultural products.



Pesticides play an important role in increasing the productivity of agricultural products. At the same time, the detection and safety control of the residual pesticides is also necessary because of their toxicity. The residual pesticide in agricultural products has been mainly measured by instrumental analysis such as GC-MS and LC-MS so far.

The procedure of using instruments to perform an accurate detection analysis of residual pesticides in agricultural products is well established. This kind of instrumental analysis is, however, expensive, time consuming, and requires specific training. Thus, it would obviously be beneficial to be able to detect residual pesticides with simple, low cost operation, allowing rapid analysis without any special skill.

In this regard, we have established immuochromatography kits and an immunosensor based on surface plasmon resonance (SPR-sensor) for the detection of residual pesticides in agricultural products. When an antibody of the target pesticide is applied to the immunosensor, hapten synthesis is required because of the small size of the target molecule. This is one of the most important steps for preparing a highly sensitive monoclonal antibody for target molecule. We have synthesized more than 20 pesticide haptens and their antibodies at Toyohashi University of Technology and the Advanced Scientific Technology & Management Research Institute of Kyoto and Research & Development Division,



Fig.1 Principle of immuochromatography (animation in Japanese)

Horiba, Ltd. The resulting monoclonal antibody was successfully set up as an immuochromatography kit. The kit visually displays the target pesticide by colorizing and also immediately determines the concentration of the residual pesticide. All it requires is to take a photo using a standard mobile phone camera. (Fig. 2)

Immuochromatography kits were found to be a rapid, highly target selective and low cost method for residual pesticide detection. This tool can be utilized anytime, anywhere, for self-managing the safety control of foods such as agricultural products. We believe that the cost performance and easy operation combined with high accuracy are great advantages compared to the standard instrument analysis. Furthermore, SPR-sensors can detect up to 6 different types of pesticide at the same time. The working sensitivity of these methods is up to 10ng/mL. These can be also applied to the safety control of agricultural products, especially in large-scale production areas. (Fig. 3)

See more at:

<http://www.siorchem.ens.tut.ac.jp/research/>

<http://www.siorchem.ens.tut.ac.jp/work/>

<http://www.tut.ac.jp/english/newsletter/contents/2016/06/features/features.html>



Fig.2 Immuochromatography kit for a detection of residual pesticide in agricultural products.

## Patents:

- ・特願2015-017356「抗ボスカリド抗体および該抗体を用いたボスカリド測定方法」
- ・特願2015-110192「イムノアッセイ法を用いた茶の残留農薬検査のための前処理法、および残留農薬検査法」
- ・特願2015-110192「茶の残留農薬検査のための前処理法」
- ・特願2015-204622「機器分析による残留農薬検査のための前処理法」

## References:

Hirakawa, Y., Yamasaki, T., Watanabe, E.; Okazaki, F.; Murakami-Y., Y.; Oda, M.; Iwasa, S.; Narita, H.; Miyake, S., "Development of an Immunosensor for Determination of the Fungicide Chlorothalonil in Vegetables, using Surface Plasmon Resonance" *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 63, 28, [6325–6330], (2015). DOI:10.1021/acs.jafc.5b01980.

Hirakawa, Y.; Yamasaki, T.; Harada, A.; Ohtake, T.; Adachi, K.; Iwasa, S.; Narita, H.; Miyake, S. "Analysis of the Fungicide Boscalid in Horticultural Crops Using an Enzyme-Linked Immunosorbent Assay and an Immunosensor Based on Surface Plasmon Resonance" *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 63, 28, [6325–6330], (2015). DOI:10.1021/acs.jafc.5b01980.

Y. Nakagawa, S. Chanthamath, K. Shibatori, S. Iwasa, "Ru(II)-Pheox Catalyzed Asymmetric Intermolecular Cyclopropanation of Electron-Deficient Olefins", *Organic Letters*, 17, [2792–2795], (2015). DOI:10.1021/acs.orglett.5b01201.

山崎 朋美, 井上 知美, 平川 由紀, 三宅 司郎, 上野 英二, 斎藤 勲「ELISAキットによる野菜・果実中残留農薬分析の妥当性評価の試み」*食品衛生学雑誌*, 56: 240-246 (2015).



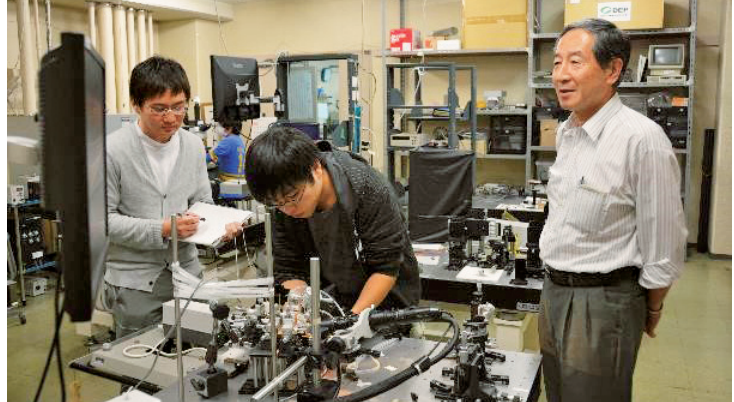
Fig.3 Immunosensor based on surface plasmon resonance (SPR) for multi-targets residual pesticide in agricultural products.



# Near-infrared (NIR) optical imaging system for detecting small organic objects in thick foods

By Mitsuo Fukuda

Mitsuo Fukuda and his colleagues, in cooperation with Aichi Science & Technology Foundation, have developed basic real-time imaging techniques for detecting small organic objects in foods, based on a simple technique of monitoring the distribution of the infrared light transmitted through the materials. The newly developed system has proven itself in being able to detect objects such as a human hair, a piece of plastic and a piece of rubber encased in 5-mm-thick chocolate, none of which can be picked up using an X-ray detection sensor and a metal detector.



To be able to detect foreign objects in foods on factory production lines is important for our health and safety and is normally performed using an X-ray computed tomography apparatus or a metal detector. Dense materials such as a piece of stone or metal can be easily detected, and foods containing them are removed from the production lines.

However, foreign organic objects in foods cannot be detected with this equipment, and so the need for new techniques to detect them has been around for some time.

Now, Mitsuo Fukuda and his colleagues in TUT and Aichi Science & Technology Foundation, have developed novel real-time NIR optical imaging systems comprising a two-dimensional (2D) optical source composed of 850-nm-wavelength-band LEDs, a CMOS sensor, and optimized optical systems. The optical system accurately detected organic

objects such as a human hair, part of an insect, plastic, and a piece of rubber in a piece of 5-mm-thick chocolate in real time. Additionally, the bone structures in chicken wings of about 20-mm in thickness were also able to be detected.

“We have developed some basic techniques required for constructing a real-time optical imaging system with high spatial resolution. The developed system has a simple optical structure and is tolerant of mechanical vibration. This optical imaging system is, therefore, applicable to mass-production lines of foods in factories, where real-time monitoring is required with high spatial resolution.”

The author Prof. Mitsuo Fukuda said “We only developed some basic techniques and systems for a real-time

optical imaging system for detecting foreign organic objects and will need to customize them for application to each type of food in the future”.

The developed real-time NIR imaging system will be applicable for the observation of internal images of moving samples such as foods in mass-production lines in factories with high spatial resolution. Consequently, this system will promote food safety and security in our daily lives.

## Patents:

- 特願2014-102334 「透過検査装置」
- 特願2012-185373 「食品検査装置」

## References

Souphaphone Phetchalern, Hiroto Tashima, Yuya Ishii, Takeshi Ishiyama, Shinichi Arai, Mitsuo Fukuda (2014). Near-infrared imaging equipment that detects small organic substances in thick foods, Proceeding of SPIE 9192, 91921A-1-91921A-6, 2014. 10.1117/12.2061455

Hiroto Tashima, Tsuneaki Genta, Yuya Ishii, Takeshi Ishiyama, Shinichi Arai, Mitsuo Fukuda (2013). Near-infrared imaging system for detecting small organic foreign substances in foods, Proceeding of SPIE 8841, 884117-1-884117-7. 10.1117/12.2023541

Tsuneaki Genta, Hiroto Tashima, R. Shimokita, Shinichi Arai, and Mitsuo Fukuda (2012). Development of a real-time optical imaging system for monitoring food quality and assessing human body parts using diffused light, Proceeding of SPIE 8550, 85500F-1 - 85500F-8. 10.1117/12.980257

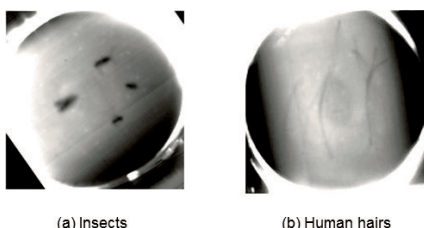


Fig.1 Images of insects and human hairs embedded in 5-mm-thick chocolate.



fig.2 Developed real-time NIR optical imaging system

# Development of three channel SQUIDs contaminant detector for food inspection

By Saburo Tanaka

In terms of food safety, the mixture of contaminants in food is a serious problem for not only consumers but also manufacturers. In general, the target size of a metallic contaminant to be removed is 0.5mm. However, it is a difficult task for manufacturers to achieve this target, because of the present lower system sensitivity. Therefore, we developed a food contaminant detection system based on high-Tc RF superconducting quantum interference devices (SQUIDs), which are highly sensitive magnetic sensors. This study aims to improve the signal to noise ratio (SNR) of the system and detect a 0.5mm diameter steel ball. Using a real time digital signal processing technique along with analog band-pass filters, we improved the SNR of the system. Owing to the improved SNR, a steel ball with a diameter as small as 0.3mm, with a stand-off distance of 117mm was successfully detected. These results suggest that the proposed system is a promising candidate for the detection of metallic contaminants in food products.



The mixture of metallic contaminants into food is a serious problem not only for consumers but also manufacturers. To ensure food safety, the finding of small metallic contaminants is important. A piece of metal may, for example, come loose from a machine used in the processing of food which may consequently cause metallic contamination. Thus, finding small metallic contaminants is important for food safety. Presently, food manufacturers are installing inspection systems such as eddy current detectors and X-ray imaging. In particular, the eddy current metal detector is widely used in food factories. However, its sensitivity (threshold level) is unstable and is highly influenced by the conductivity of the material being detected. X-ray imaging is a useful technique and is gaining popularity in food factories and in other various industries. However, the lower detection limit for practical X-ray usage is in the order of 1mm. Moreover, X-ray radiation sometimes causes ionization of the food, which may often change the taste of the food.

We are proposing a detection system using SQUID magnetic sensors to circumvent the difficulties outlined above. We have developed a detection system that inspects food packages with a height of 100mm, which is the size required for practical food inspection.

Since the signal is reduced if the distance between the sensor and the target (stand-off distance) becomes large, improvement of the signal to noise ratio (SNR) for a practical system is required. Therefore, a program of a real time digital filter was developed and applied to the system. The target size of the metallic contaminant in food is diameter of  $\phi 0.5\text{mm}$ .

The system consists of a permanent magnet, a conveyor belt, a mu-metal magnetic shield box, an aluminum electro-magnetic shield box and three High-Tc RF SQUID magnetometers. The controlling and data processing software used was developed exclusively for this system. A block diagram of the detection system is shown in Fig.1. The detection technique is based on recording the remnant magnetic field of a magnetic contaminant using a SQUID magnetometer. The packaged food is conveyed on a conveyor belt and passes the gate of the magnet. The SQUID sensor senses the remnant magnetic field of a metal contaminant in the food. The SQUID and its driving electronics were manufactured by Juelicher SQUID GmbH (JSQ). The noise of each RF SQUID magnetometer in the system is  $300\text{-}600\text{fT}/\text{Hz}^{1/2}$  at 10Hz, and  $70\text{-}170\text{fT}/\text{Hz}^{1/2}$  at the noise floor ( $>1\text{kHz}$ ). The signals of the SQUIDs output were

filtered in an analog high pass filter ( $-6\text{dB/oct}$ ,  $f_c=0.4\text{Hz}$ ) and a low pass filter ( $-24\text{dB/oct}$ ,  $f_c=11\text{Hz}$ ), but SNR was not enough to detect the signal of a steel ball (SUJ-2)  $\phi 0.5\text{mm}$ . Therefore we considered the introduction of a real-time moving average digital filter in addition to the analog filters. A program (C++) for the digital filter was developed and evaluated using the system. The experimental conditions are as follows; conveyer speed: 20m/minute, Stand-off (distance from SQUID to the test sample): 117mm, test samples: steel ball  $\phi 0.3\text{-}0.8\text{mm}$ , sampling rate: 20-1000Hz, and number of averaging points: 2-500.

The time trace for the test sample  $\phi 0.5\text{mm}$  is shown in Fig. 2. Trace (a) was obtained before digital processing (analog HPF and LPF are applied), and trace (b) was obtained after digital processing. Trace (b) is clear; the random noise is 92% reduced but the peak-to-peak value is 22% smaller than that before digital processing. As a result, the SNR is improved approximately 10 times.

Fig.3 shows the dependence of the SQUID output peak signal on the sample diameter. The signals scaled well with the cube of the diameter, which suggests that the signal was proportional to the volume of the



sample. By applying the digital filter, the SNR for a steel ball of  $\phi 0.4\text{mm}$  is 4.2, which is more than the threshold level of  $\text{SNR}=3$ . Therefore, the target of our project, which is  $\text{SNR}>3$  for a steel ball of  $\phi 0.5\text{mm}$  with distance of  $100\text{mm}$ , has been accomplished by the application of the digital filtering technique.

Finally, these results suggest that the system is a promising tool for the detection of metallic contaminants in practical applications.

#### Patents:

- ・特願2012-19175 「微小磁性金属異物の検査装置」
- ・特願2013-165576 「磁性金属異物を検出するための装置」
- ・特願2013-175030 「磁性金属異物を検出するための装置と方法」
- ・特願2015-024016 「磁性金属異物の検出方法及び検出装置」
- ・特願2015-024017 「磁性金属異物の検査装置と検出方法」

#### References:

S. Tanaka, M. Natsume, M. Uchida, N. Hotta, T. Matsuda, Z. Aspanut, et al., "Measurement of a metallic contaminant in food by high- $T_c$  SQUID," *Supercond. Sci. Technol.*, vol. 17, pp. 620-623, 2004.

M. Bick, P. Sullivan, D. L. Tilbrook, J. Du, B. Thorn, R. Binks, et al., "A SQUID-based metal detector: comparison to coil and X-ray systems," *Supercond. Sci. Technol.*, vol. 18, pp. 346-351, 2005.

H. J. Krause, G. I. Panaitov, N. Wolter, D. Lomparski, W. Zander, Y. Zhang, et al., "Detection of Magnetic Contaminations in Industrial Products Using HTS SQUIDs," *IEEE Trans. on Appl. Supercond.*, vol. 15, pp. 729-732, 2005.

S. Tanaka, Y. Kitamura, Y. Uchida, Y. Hatsukade, T. Ohtani, and S. Suzuki, "Development of Metallic Contaminant Detection System using Eight-Channel High- $T_c$  SQUIDs," *IEEE Trans. Appl. Supercond.*, p. 1600404, 2013.

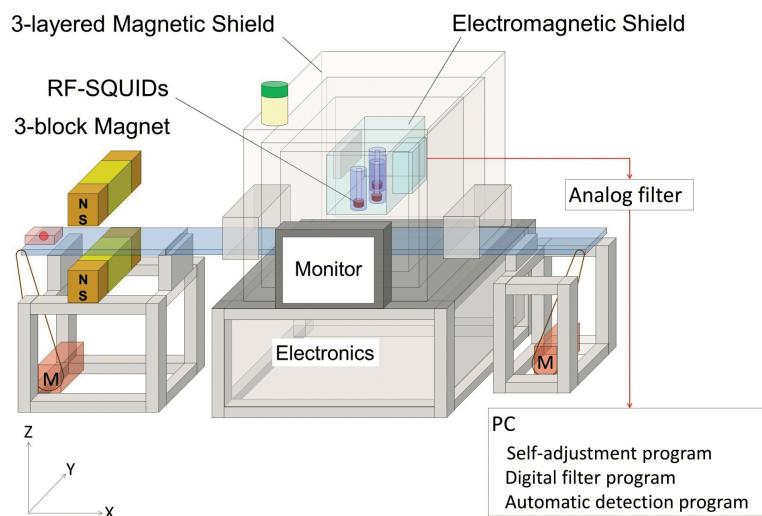


Fig.1 Block diagram of detection system.

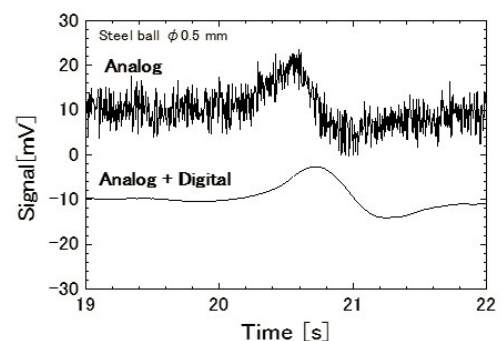


Fig.2 Time trace of the test sample ( $\Phi 0.5\text{mm}$ ) (a) Before digital processing. (b) After digital processing system.

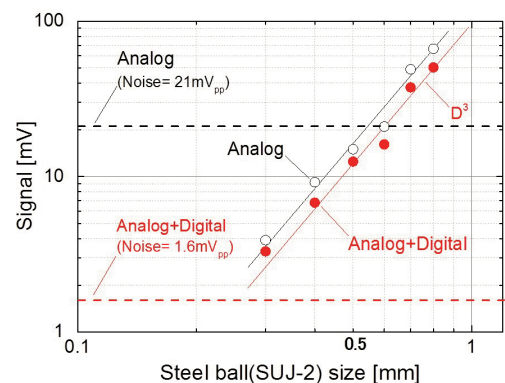
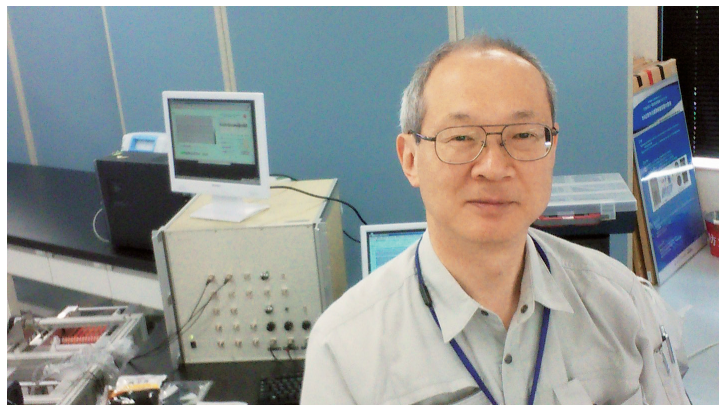


Fig.3 Dependence of the peak-to-peak signal on the steel ball diameter.

# Food contaminant detector using Ultrasound

By Naohiro Hozumi

Ultrasound propagation is influenced by acoustic transparency, hardness, and scatter. By applying ultrasound imaging technology, a food contaminant detector is being developed. It has the potential to detect non-metallic contaminants like hairs and plastics that are not easily detected by conventional systems using optical and electromagnetic measures.



Contamination is a serious issue in the food industry. Electromagnetic measures can barely detect non-metallic solid contaminants such as hair and plastics. As in many cases the food is not transparent, which makes optical detection difficult. Ultrasound can reach relatively deep within the target, although its spatial resolution is not as good as optical observation. It is expected that ultrasound can be used to detect certain solid contaminants that would not otherwise easily be detected.

Ultrasound, which has a much higher frequency than audible sound, is subjected to a significant attenuation in air. Therefore coupling to the target must be done through some liquid medium like water. Also the target food must be in the condition of a liquid, paste, or airless solid. Liquid state food like milk may be inspected by coupling a sensor to the flow path like a pipe. Pouch packed food, which normally does not include a significant amount of air, may be transparent to ultrasound. Although the pouch film is often made of aluminum laminate, its lack of thickness means that in practice it can be easily penetrated by ultrasound up to 10 MHz.

Therefore contaminants in such food pouches may be detected although coupling to the sensor must be retained by water. The potential for contaminant detection would be upgraded then if ultrasonic detection were added to the system, as optical and electromagnetic measures may be inadequate for detection through aluminum film.

Food processing lines routinely run as fast as 20 m/s. The detection system should be quick enough to follow the processing speed. In the case of reflection type detection using equipment similar to the medical B-mode inspector, the sensor transmits and receives ultrasound one line at a time. If the number of array elements is 128, 128 separate line scans are required to create one B-mode image. So the number of frames produced in one second may be as low as 60.

On the other hand if a transmission mode requiring a single one way trip through the target is employed, one shot of ultrasound can be received simultaneously by array sensors. This process can realize extremely high speed

detection. In the project, a prototype was created by using an array sensor composed of 512 elements. One shot of ultrasound can create 512 pixels in the image. A transmission image can be created when the target moves across the sensor.

The picture represents two hairs arranged diagonally in a rectangular wire frame that was placed in water in an aluminum laminated pouch film. The hairs can clearly be seen, suggesting the potential of detection under ideal conditions. As the ultrasonic beam is not focused, the image of the hairs is somewhat blurred. However the image may be improved if an acoustic lens using something like acrylic resin is employed. Discrimination between contaminants and solid ingredients may be realized based on the difference in transparency. Therefore it can be expected that this method will prove useful when applied to the safety control of real food.

## Reference:

穂積直裕, 神納貴生, 遠藤政男, 伊藤智啓, 市毛将司, 小林和人, 天野啓二,  
「超音波による食品中の異物検査の基礎検討」、超音波 TECHNO, Vol. 28, No. 2 pp. 85-90 (2016)

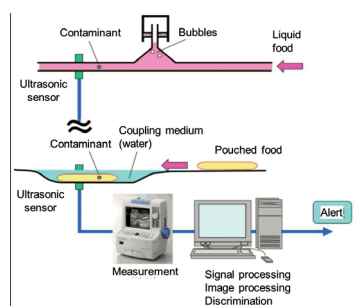


Fig.1 Concept of ultrasonic detection.

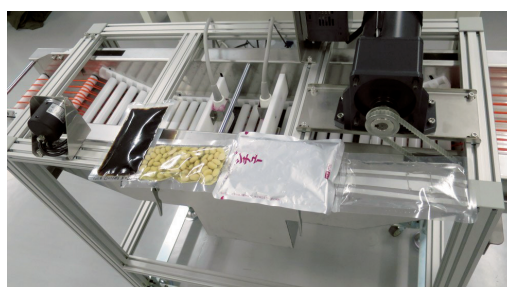


Fig.2 Transmission array sensor and conveyor system.

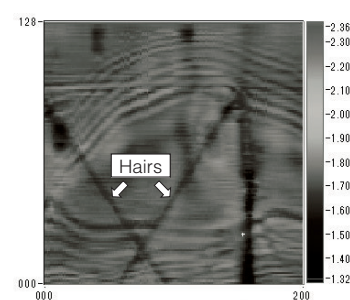


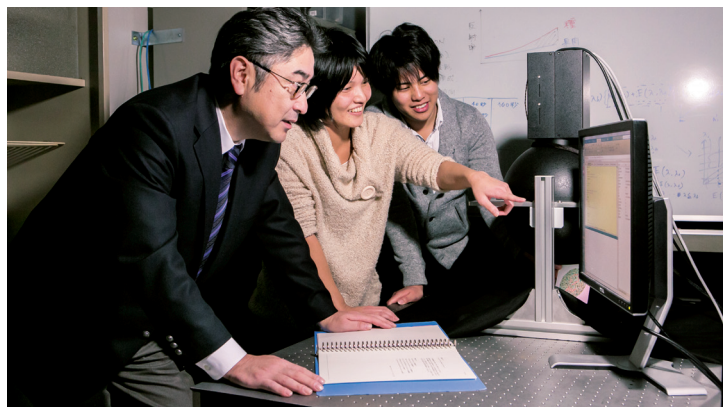
Fig.3 Hairs in pouche package.



# Rapid and sensitive bacteria detection using microcolony method combining a fluorescent staining technique and a bioimaging system

By Shigeki Nakauchi

We have developed a novel fluorescent staining method “metachronic observation”. This method consists of taking some metachronic fluorescent staining microcolony data, and comparing it to fluorescent signals in order to provide high definition microcolony signals. In addition, we have developed a novel method for detecting microcolonies which we have termed “membrane covering method”. This method can be used for staining microcolonies above the agar surface, as well as for staining with fluorescence-labeled antibodies.



Microbiological contamination is a key issue for the pharmaceutical, food and beverage industries. However, traditional methods to detect physiologically active bacteria, such as the standard incubation method, take a long time to produce results. Thus, there is a significant demand for speedier results from microbiological detecting methods. To this end, we conducted research and development on a new method for rapid and defined bacteria detection. This research was supported by the Technological Development Project for Food Safety and Security which was a part of ‘The Knowledge Hub Aichi, Priority Research Project 2’.

To begin with, we evaluated the standard rapid detection method for bacteria. Then, we focused on a membrane filtration method, which is one of the many rapid methods of bacterial detection. In this approach, bacterial cells were trapped on a membrane filter and cultured on nutrient medium. After a brief incubation, viable cells formed microcolonies and were stained with fluorescent staining solution. We identified two key deficiencies of this method as targets for improvement:

1. Identification of false positive contamination.
2. Standard colony incubation after

detecting microcolonies.

As a result, we have developed a new fluorescent staining method called the “Metachronic observation method” and in addition the “Membrane covering method”. The “Metachronic observation method” consists of taking a number of fluorescent signals at intervals of a short period of around 1~3 min from fluorescent staining microcolonies. Comparison of the fluorescent signals provides high definition microcolony signals, removing noise from the contaminated debris and background. This technique has been used for developing a commercial fluorescent microcolony detection device named “ColoColoMee” produced by Tsuchiya Co., Ltd. Furthermore, we have also developed the “Membrane covering method” as a novel microcolony staining method, which can be used for staining microcolonies above the agar surface using a membrane immersed staining solution, allowing us to stain with fluorescence-labeled antibodies.

Shinichi KAIYA, postdoctoral researcher, said “This research was supported by Technological Development Project by Aichi Prefecture for the development of commercial products. In the beginning then, I worried about how I should approach

the development. At that time, we first validated the system using well-known biological detecting methods. Also we targeted the microcolony method and tried to discover a way to resolve certain unsolved problems. Finally, we successfully developed two novel methods for microcolony detection: ‘metachronic observation method’ and ‘Membrane covering method’, and developed a commercial product ‘Microcolony detection system ColoColoMee’. I am very happy about that.”

This developed system “ColoColoMee” has now been improved by Tsuchiya Co., Ltd. for commercialization. “ColoColoMee” is the first microcolony detecting device using the “metachronic observation method” and further research into the “Membrane covering method” to develop a new function for the system.

Visual Perception and Cognition Laboratory, Toyohashi University of Technology

<http://www.vpac.cs.tut.ac.jp/>

Tsuchiya Company Limited

<http://www.tsuchiya-group.co.jp/>

## Patents:

- ・特願2015-058653 微生物検出装置、微生物検出プログラム及び微生物検出方法
- ・特願2015-151278 微生物コロニーの測定方法

・特願2016-179947 微生物コロニーの測定方法及び測定装置

## References:

Shinichi Kaiya, Shigeki Nakauchi (2015) . Development of fluorescent microcolony detecting system: The 2015 Annual Conference of the Japan Society for Bioscience, Biotechnology and Agrochemistry. Okayama, Japan, March 26-29, 2015

Shinichi Kaiya, Shigeki Nakauchi (2016) . Development of novel bacterial micro-colony staining method: The 2016 Annual Conference of the Japan Society for Bioscience, Biotechnology and Agrochemistry. Hokkaido, Japan, March 27-30, 2016

日本農芸化学会2015年度大会 光学式微生物微小コロニー検査装置の開発

日本農芸化学会2016年度大会 新規微生物微小コロニー染色法の開発

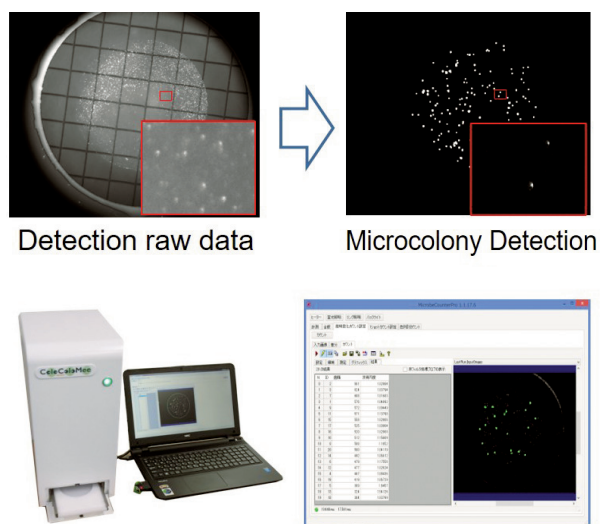
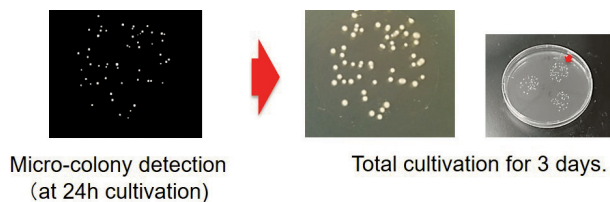
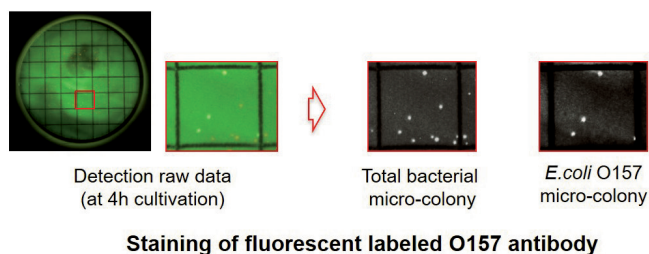


Fig.1 Appearance of Detecting Device "ColoColoMee" - Results of bacterial micro-colony detection by metachronic observation method. -



**Lactobacillus fructivorans on MRS agar plate surface.**



**Staining of fluorescent labeled O157 antibody**

Fig.2 Membrane covering method - Lactobacillus fructivorans on MRS agar plate surface and Staining of fluorescent labeled antibody



## ■ 豊橋技術科学大学の総合技術力で「食の安心と安全」をリード

田中 三郎

豊橋技術科学大学では2000年から、環境・生命工学系の田中三郎教授が中心となって高感度磁気センサを用いた金属異物検査装置の開発を進めてきており、食品異物検査には10年の技術的蓄積がありました。また、食の安心と安全に貢献する各種技術として、バイオ手法では岩佐教授、近赤外光技術では福田教授、超音波技術では穂積教授、光学的分析技術では中内教授らが、それぞれ核となるシーズを持っていました。

愛知県が2011年から5年間の「知の拠点あいち」重点研究プロジェクト事業の募集を行った際に、これらの技術の蓄積をもとに、豊橋技術科学大学が中心となり、他大学や公的研究所と共に、「食の安心・安全技術開発プロジェクト」として取りまとめた提案が採択されました。これは、1プロジェクト当たり年間3～4億円の大型予算の事業です。

「食の安心・安全技術開発プロジェクト」では、田中三郎教授がプロジェクトリーダーとなり、他10大学、公的研究所5機関、企業12社が参加して研究を推進しました。目標は図に示すように、

1. 残留農薬に代表される「化学物質検出」
2. 髪の毛や金属異物に代表される「固形異物検出」
3. O157など食中毒菌に代表される「微生物検出」

の3つを高精度・迅速・安価で行うことができるシステムの開発としました。開発途中で多くの

企業がプロジェクトに参加し、最終年度には試作企業16社、情報提供(ユーザ)企業20社で合計36社がプロジェクトに参画する超大型プロジェクトとなりました。本プロジェクトは社会ニーズに基づいた産業化を目した出口重視の(パスツール型)研究で、確実な成果が求められており、最終的に31件の試作品ができ、製品数は8件、製品間近は4件、2-3年以内に販売できるものが14件と多くの成果を出し成功裏に終わることができました。

以下、豊橋技術科学大学で本プロジェクトの中心となった研究とその成果を紹介致します。

- 「イムノクロマト法による残留農薬の検出」  
岩佐精二 環境・生命工学系教授
- 「近赤外光(NIR)を利用した実時間異物検査技術」  
福田光男 機械工学系教授
- 「超伝導量子干渉素子(SQUIDS)を利用した異物検査技術」  
田中三郎 環境・生命工学系教授
- 「超音波を利用した異物検査技術」  
穂積直裕 電気・電子情報系教授
- 「微生物検出のための高感度センサデバイスの開発」  
中内茂樹 情報・知能工学系教授

## ■ だれでもどこでも早く安く検査できる残留農薬検査法

岩佐 精二

農産物の安全管理のために、生物の免疫システムである抗体反応を活用して簡便に調べることのできるイムノクロマト法による残留農薬検査(Immunochromatography Kit)およびさらに表面プラズモン共鳴(Surface Plasmon Resonance: SPR)を利用した残留農薬の多標的同時検査システムの開発に成功しました。従来の、検査機器は大型で高価なうえ、熟練した専門家がなくて検査に時間を要するものが多いのですが、ここでは生産現場や海外などで簡便に素早く使える安価なシステムを確立し、感度は10ng/mLレベルに達しました。

農薬は野菜や果物などの安定供給のために重要であると同時に、残留農薬の管理は食の安全確保のために不可欠です。現在、残留農薬検査は、GC-MS、LC-MSなどの分析機器を用いた方法が主流となっています。この分析機器を用いた検査は高精度の分析が可能であるという利点がある反面、高価、要日数等の課題が残されています。このため、農産物の出荷前に、より多くの検体を検査するためには、簡便・迅速・安価な方法が必要となります。そこで、本研究では抗原抗体反応を利用した免疫測定法(イムノアッセイ)法を利用し、廉価で迅速かつ正確に測定できる農薬検出技術を確認することを狙いとし、測定の簡便性に重点をおき、イムノクロマト法を用いた残留農薬簡易検査キットを開発しました。

抗原抗体反応を利用する場合、農薬のような低分子物質は免疫応答を起こしにくいので、標的農薬にリンカーを導入しハプテンを合成し、これと高分子タンパクと結合させマウス免疫により標的農薬抗体を作製します。その後、モノクロナール抗体として単離・精製し、キット化します。また多標的残留農薬の同時検出のためにSPR-sensorの開発にも成功しました。これらのプロセス開発によって廉価、高感度、迅速な測定時間で多様な測定状況に対応する世界で初めての残留農薬キットが完成しました。

免疫測定法(イムノアッセイ)は原理的に抗原抗体反応を利用するため、微量で標的物質を特異的に認識します。特に本技術では以下のような優位性があります。1) 相対的に超低分子の標的

農薬の特定や定量ができる。2) 廉価、3) 迅速な分析時間、4) 多様な測定環境に対応、5) 簡便な前処理、6) 少量の使用有機溶媒等、既存の総合的機器分析システムに比べて大きな利点と技術的優位性があります。

開発した技術には、特に、廉価、迅速な分析時間、多様な測定環境に対応、簡便な前処理等の特徴があります。これらの利点を活かして農薬を使用する野菜や果物などに関わる生産者、集荷場、食品加工業者、農薬生産販売企業、輸出入業者および消費者などの広範な局面で直接的かつ重層的に活用され食の安心、安全に寄与することが期待されます。

## ■ 近赤外(NIR)光を利用した食品中の有機異物検査システム

福田 光男

電気・電子情報工学系、福田光男教授の研究グループは、愛知県の科学技術交流財団と協同で食品中の有機異物の検査システムを開発しました。NIR光を食品に照射し、食品を透過するNIR光の透過像を観察するものです。開発された新たなシステムにより、厚さ5ミリメートルのチョコレートに埋め込まれた、エックス線検査装置や、金属探知機では検出できない昆虫や毛髪を、実時間検出することが可能となりました。

食品工場の製造ライン等においてエックス線検査装置や金属探知機による食品中の異物検査は食の安全・安心に欠くことのできないものです。これらの検査では金属片や小石等の密度の高い異物を検出することが可能です。しかしながら、昆虫や毛髪などの有機異物については、検出することが極めて困難でした。

福田光男教授の研究グループと愛知県の科学技術交流財団は、これらの問題に対し、850ナノメートルの光を放出するLEDを2次元アレイ状に並べた平面光源とCMOSカメラおよび適切な

光学系からなる新たな実時間NIR光イメージング観察装置を開発しました。開発したシステムにより、5ミリメートルの厚さのチョコレートへ埋め込まれた昆虫や毛髪、さらには厚さ20ミリメートルの手羽元や手羽先中の骨格等の実時間観察が可能となりました。

開発されたNIR光を用いた食品の透過像の実時間観察技術は高い空間分解能を有しており、非常に単純な構造のため、機械的な振動への耐性が高いという特徴があります。そのため、食品工場の大量生産ラインへの適用が可能です。

著者の福田は、「我々は食品中の有機異物検出のためのNIR光透過像の実時間観察技術の基礎を開発しましたが、今後いろいろな食品対応でそれらの技術／装置を最適化していく必要がある。」と話しています。

今回開発された装置は比較的高速で動いている食品の内部観察を高分解能で行えるために、食品工場での大量生産ライン等で、有機異物の検出に用いることのできる可能性があります。そのため、我々の日常生活の食の安全・安心への寄与が期待されます。

## ■ 超伝導量子干渉素子(SQUIDs)を利用した異物検査技術

田中 三郎

食品の安全性確保の見地から、食品への異物混入は消費者のみならず製造業者にとっても非常に深刻な課題となっています。一般に、除去対象となる混入金属異物の大きさは0.5mm程度ですが、汎用検査システムの測定感度等に制限があり、製造業者にとってこの目標を達成することは非常に困難なものとなっています。このような背景の下、我々は高感度磁気センサであるRF超伝導量子干渉素子(SQUID)を用いた食品中異物検査装置を開発しました。アナログバンドパスフィルタと実時間デジタル信号処理の適用により装置のS/N比を向上することで、スタンドオフ距離117mmの条件下にて0.3 mm径の鋼球を検出することに成功しました。本成果は、開発システムが食料製造品中の混入金属異物検出に極めて有望であることを示すものです。

金属異物は主に食品製造中に混入することが多く、その検出技術の開発は食の安全を確保する観点で、非常に重要です。食品製造業者の工場には、渦電流検出装置やX線イメージング装置が導入されています。しかしながら、前者においては、混入金属の電気伝導率に検出感度が大きく左右される課題があります。また、後者においては、異物サイズの検出限界は1mm程度であることに加え、X線照射による食品の味等への悪影響も懸念されています。

これらの問題の克服に向けて、私たちはSQUID磁気センサを用いた金属異物検査システムを提案し、実際の食品検査で要求される高さ100mmの食品パックに適用可能な検査システムを開発しました。検出すべき信号の強度はセンサと検出対象物の距離(スタンドオフ距離)と共に減少するため、実際の検出システムにおいては、S/N比(SNR)の向上が非常に重要な技術課題となります。実時間デジタルフィルタの活用により、0.5mm径の鋼球を検出することを開

発目標としました。

Fig 1に示す通り、検査システムは永久磁石、食品移動用コンベヤー、高透磁率合金製磁気シールドボックス、アルミ製電磁シールドボックス、3チャンネル高温RF-SQUID磁気センサから構成されます。また、本装置用の制御及びデータ処理ソフトウェアを開発しました。パッケージングされた食品はベルトコンベヤー上を移動し、永久磁石のゲートを通過する構成となっています。SQUID磁気センサは食品中の金属異物の残留磁化信号を検出します。SQUIDセンサの出力信号はアナログハイパスフィルタ(-6dB/oct,  $f_c = 0.4\text{Hz}$ )およびローパスフィルタ(-24dB/oct,  $f_c = 11\text{Hz}$ )でフィルタリングされますが、S/N比は0.5mm径の鋼球を検出するには不十分でした。この問題の克服に向けて、私たちは、上記のアナログフィルタに加え実時間デジタルフィルタの導入を提案し、制御プログラムの開発に取り組みました。検出試験の条件は、コンベヤー移動速度:20m/min、スタンドオフ距

離:117mm、鋼球サンプル径:0.3-0.8mm、サンプリングレート:20-1000Hz、およびアベレーシング数:2-500に設定しました。

直径0.5mmの鋼球を用いた測定結果(Fig. 2)よりデジタル信号処理の適用によってノイズが大きく低減されており、S/N比は約10倍向上していることを確認しました。更に、SQUIDセンサの検出信号の鋼球サンプル径依存性(Fig. 3)より、検出信号は鋼球系の3乗にスケールアップしていることが確認され、検出信号強度は鋼球サンプルの体積に比例することが示唆されました。デジタルフィルタの適用によりSNRを大きく低減することができ、結果として開発目標としていた0.5mm径の鋼球を、スタンドオフ距離100mmの条件下にて達成することに成功しました。本結果は、開発した検査システムが、実用的な金属異物検査に向けた有望なツールであることを示唆するものと言えます。

## ■ 超音波を利用した食品中の異物検査装置の開発

穂積 直裕

超音波の透過性及び硬さや散乱に対する情報の取得性等の性質を利用した超音波診断技術を応用し、現状の異物検査装置では困難なレトルト食品内などの異物(毛髪、プラスチック等)の検出を可能にする超音波イメージング異物検査装置を開発しました。

食品に固形の非金属異物(毛髪、プラスチック等)が混入している場合は、磁気や電磁波を使った検出が難しく、食品が不透明であることが多いことから、光による方法にも限界があります。超音波は、空間分解能は高いものの比較的深部まで透過し、硬さや散乱に関する情報が得られるため、他の手法で検出困難な固形物の検出が可能と期待されます。

超音波は可聴域の音波と異なり、空気中での減衰が大きいので、センサ部(プローブ振動子)と食品が水等を介して、音響的に接触する必要があります。従って、異物検出の可能性がある食品は液状、ペースト状、空気を含まない固形のもので、牛乳などの液体流動食品は、流路にセンサを取り付けて音響的結合が可能と考えられます。レトルト食品は、ほとんど空気を含まないため、内部は超音波を通しやすいです。レトルト用包装フィルムは保存性を高めるため多くの場合アルミを含みますが、非常に薄いので、10

MHz程度までの超音波は比較的良好に透過することができます。センサ部との間に水などの音響結合媒体を介在させる必要がありますが、内部の異物をモニタできる可能性があります。アルミを含むフィルムの場合、光学的、電磁気的検査が難しくなるので、超音波を加えることで、異物検出力を高められると考えています。

食品の製造ラインは通常20m/分程度もしくはそれ以上で運転されるため、検出装置は高速化に対応する必要があります。反射式では1素子毎に深さ方向のデータを取得しながら、128素子スキャンして1枚の画像を生成するため、その速度は毎秒60フレーム程度に留まります。

一方、検出方式を音波が片道ですむ透過型にした場合、多数の素子で一括して受信することが可能となり、高速でスキャンすることが出来ます。そこで、512個の素子からなるアレイセンサを受信機として試作し、被観察体を透過する超

音波を受信しました。1回の送波で各素子の信号強度から1ライン分512画素を構成することができます。送受波を繰り返しながら被観察体が移動すると、透過画像を得ることができるのです。

レトルト食品用のアルミラミネートフィルムの中に、針金の四角の枠と対角上に毛髪を固定した異物と水を入れて観察した結果、毛髪の透過像を確認することができ、理想的な条件下ではレトルト食品中の毛髪まで検出できる可能性があることがわかりました。今回、超音波は、送信、受信とも集束ビームとなっていないため、画像のボケは大きいですが、アクリル樹脂等を使用した超音波レンズによりこれをおお程度補正できると考えられます。また、具材の入った食品では、各具材の透過性と異物との識別が課題であり、画像処理による対応を検討しています。今後、実食品での検証を進めていく予定です。

## ■ 蛍光染色と画像処理を組み合わせた新規微生物コロニー検査法による、食品汚染細菌の迅速検査

中内 茂樹

数枚の継続的な蛍光検査データを比較することで、高感度に微生物微小コロニーのシグナルを得ることができる、新規蛍光染色検査法「経時観察法」を開発しました。また、それ以外に、我々は「被覆染色法」という方法を新しく開発しました。この方法は、寒天平板上のマイクロコロニーを直接染色する手法で、さらに、蛍光修飾した抗体を利用することもできるものです。

製薬、飲料、食品などの工場においては、微生物の汚染が非常に重要な問題として知られています。しかしながら、現在一般的な微生物の検査法(一般培養法)は、結果を得るまでに長い時間がかかり、そのため、迅速に結果を得られる微生物検査法は広い分野で求められています。それらの背景から、我々は、愛知県 食の安心安全技術開発プロジェクト重点研究プロジェクト2において、迅速かつ正確な微生物検査法に関わる研究開発を行ってきました。

我々は最初に、既知の迅速検査法の評価を行い、その中からメンブレンフィルター培養法に注目しました。この方法は、微生物をメンブレンフィルターでトラップし、栄養培地上で培養します。短時間の培養の後、活性のある微生物が構築した微小コロニーを蛍光染色して測定する微生物迅速検査法の一つです。

我々はこの手法の問題点を解決することを目指

としていました。問題点の一つ目は偽陽性混入物の識別、二つ目は検査後に、再度培養できるシステムの構築です。その結果、我々は最終的に新規蛍光染色検査法「経時観察法」と「被覆染色法」を開発しました。この手法は蛍光染色時に1~3分の時間を開けた蛍光データを取得し、それを比較することでノイズを除去し、微小コロニーの蛍光シグナルを高感度に取得することができます。この手法は株式会社榎屋において、微小コロニー迅速検査装置「コロコロミー」の開発に使用されています。

もう一つの染色法である「被覆染色法」は新しい染色法であり、寒天培地上のコロニーを染色剤で浸したメンブレンを用いて染色することができます。さらに、蛍光修飾した抗体を用いることもできます。

ポストドク研究員の海谷氏は「この研究は愛知県の重点研究プロジェクトの一巻としておこな

われ、商業的な製品の開発が求められていました。そのため、当初はどのように開発に対してアプローチすればよいのかに悩んだこともあります。その際、我々はまず既知の微生物検査法を検証し、微生物微小コロニー検査法に対して、既存の問題を解決し、新しい技術を作ることを目指しました。結果、最終的に、我々は経時観察法と被覆染色法という二つの技術を生み出し、微生物検査装置「コロコロミー」を開発することに成功しました。非常に嬉しく思っています」といっています。

現在、開発された検査装置「コロコロミー」は商品化のために、株式会社榎屋のもと、開発が継続して進められています。コロコロミーは経時観察法を組み込んだ初めての装置です。我々は今後もこの装置についての研究を続け、最終的には被覆染色法についてもコロコロミーの機能に組み込んでいきたいと考えています。



## Pick Up

### Toyohashi University of Technology hosts the 1st TUT-ASEAN University Presidents Forum

Since its establishment, Toyohashi University of Technology (TUT) has consistently maintained a tradition of active collaboration with universities from the ASEAN nations. This activity ranges from a steady intake of international students to university-industry cooperation and support for the development of emerging countries' higher education.

As part of its commemoration of the 40th anniversary of its establishment this year, TUT will host the 1st TUT-ASEAN University Presidents' Forum. On December 18th-19th 2016, TUT's satellite campus in Penang, Malaysia, will host representatives of more than 20 universities from over 8 countries.

In line with the event's theme of "Expanding and Deepening International Collaboration among Higher Education institutors in the fields of Engineering and Technology", we look forward to productive exchange of opinions and discussions toward greater cooperation.



#### Editorial Committee

Takaaki Takashima, Chief Editor, International Cooperation Center for Engineering Education Development (ICCEED)  
 Kunihiro Hara, Research Administration Center (RAC)  
 Ryoji Inada, Department of Electrical and Electronic Information Engineering  
 Eugene Ryan, Center for International Relations (CIR)  
 Yuko Ito, Research Administration Center (RAC)  
 Shizuka Fukumura, International Affairs Division  
 Tomoko Kawai, International Affairs Division

#### Toyohashi University of Technology

The Toyohashi University of Technology (TUT) is one of Japan's most innovative and dynamic science and technology based academic institutes. TUT Research is published to update readers on research at the university.

1-1 Hibarigaoka, Tempaku, Toyohashi, Aichi, 441-8580, JAPAN  
 Inquiries: Committee for Public Relations  
 E-mail: [press@office.tut.ac.jp](mailto:press@office.tut.ac.jp)  
 Website: <http://www.tut.ac.jp/english/>