

複合金属酸化物半導体薄膜を用いた酵素センサの構成

Construction of Enzyme Sensor Utilizing Composite Metal Oxide Semiconductor Thin Film

○横田博久, 菊池隆之, 菊池 孝, 千葉茂樹, 長田 洋,
関 享士郎 (岩手大学), 中村 誠 (サンデン)

○Hirohisa Yokota, Takayuki Kikuchi, Takashi Kikuchi, Shigeki Chiba,
Hiroshi Osada, Kyoshiro Seki, Makoto Nakamura (Sanden co.Ltd.)

岩手大学

Iwate University

キーワード: 金属酸化物 (metal oxide), 半導体薄膜 (semiconductor thin film),
真空蒸着 (vacuum deposition method)

連絡先: 〒020 岩手県盛岡市上田 4-3-5 岩手大学工学部電気電子工学科
電子システム工学講座

関享士郎, Tel. 019(621)6380 Fax. 019(621)6380, E-mail: seki@msv.cc.iwate-u.ac.jp

1. 緒言

金属酸化物としてサーミスタやバリスタをはじめ多くのデバイスが開発され、計測・制御、電子回路などの分野で活用されている。金属酸化物はバルクまたは厚膜に成形して使用されているが、その薄膜は材料である酸化物の融点が高いため、作製が困難であり、また均一な組成のものが得られにくい。

この問題を解決するため、筆者等は融点の低い金属を酸化物にすると融点が高くなるという特性に着目し、融点の低い亜鉛から融点の高いマンガン、鉄などの金属へと順次真空蒸着して多層膜を形成し、その後、高温でアニーリング処理を施して金属酸化物に転換する方法を開発した。本方法では、アニーリング温度より低い融点を持つ金属も飛散するこ

となく、融点の高い複合金属酸化物半導体薄膜 COT(Composite Metal Oxide Semiconductor Thin-Film)として蒸着できることを明らかにした。COTの膜厚は0.7~1.5 μm であり、その抵抗は著しい温度依存性を有しており、 10^{-2} ~ 10^{-4} °Cの微少な温度変化を測定する高感度センサとして活用できる。ここでは、COTの作製と、その応用として溶存酵素の反応熱を測定する系を構成し、生体物質である尿素を感知する酵素センサシステムについて検討した。

2. COTの作製と基礎特性

COTは金属薄膜を酸化物に転換させた複合膜である。金属薄膜は温度係数が小さく、導電性に優れているため、電子デバイスとして有用な素子であるが、温度係数が小さいた

め、 10^{-3} °Cオーダーの微小温度の変化を検出するセンサには適していない。金属薄膜を熱測定装置に適応させるためには、温度係数を高めて熱応答特性を鋭敏にする必要がある。この目的を達成させるため、金属多層膜を半導体に転換させ、適当な抵抗値を持たせる必要がある。以上の目的のため、ここでは、複数の金属を順次蒸着し、次いで、これらの膜を高温でアニーリング処理を施して酸化膜にして半導体に転換させる方法を検討した。本方法によれば、多層膜の上層には融点の高い鉄、下層には融点の低い亜鉛を蒸着させるため、高温のアニーリング工程において亜鉛の飛散がなく、スムーズに酸化物が形成される。COTは、ビードサーミスタに比べ、熱容量が小さく、温度依存性が極めて大きいことがあげられる。このため、 10^{-2} ~ 10^{-4} °C程度の微小な温度変化に鋭敏に反応して電気的特性を変えるので、尿素やコレステロールなどの生体物質の検出に適応することができる。

図1にCOTの作製工程を示す。薄膜の作製は、抵抗加熱法による真空蒸着法で行った。真空度は 3×10^{-5} (Torr)である。最初、亜鉛粉末、次いでマンガン、鉄粉末の順序で蒸着させて3層の多層膜を形成させた。ポートの通電電流はZnの場合、20A、MnとFeは40Aである。蒸着時間は5~20分とした。次いで、両端に銀電極を蒸着した後、電気炉に多層膜を移して、1000°Cで30分間酸素雰囲気中でアニーリング処理を行う。この過程で、試料に電気的特性が与えられ、半導体特性を持つCOTが作製される。

図2は、アニーリングの温度-時間特性を示す。アニーリング工程は温度上昇、定温保持及び冷却のプロセスで行われる。ここで、定温保持期間をアニール時間と呼ぶことにする。

図3はCOTの金属の定量分析を示したものである。試料はZn, Mn, Feを蒸着し、

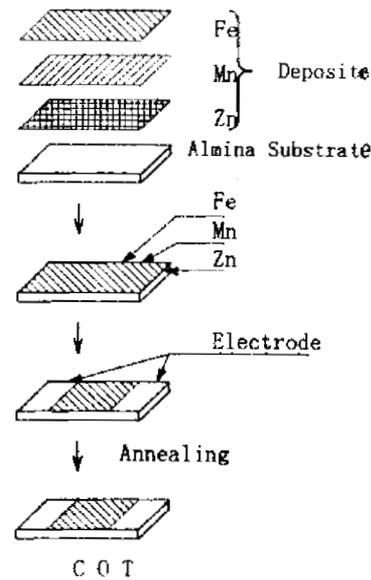


図1 複合金属酸化物半導体薄膜COTの作製工程
Fig.1 Preparation process of composite metal oxide semiconductor thin-film COT

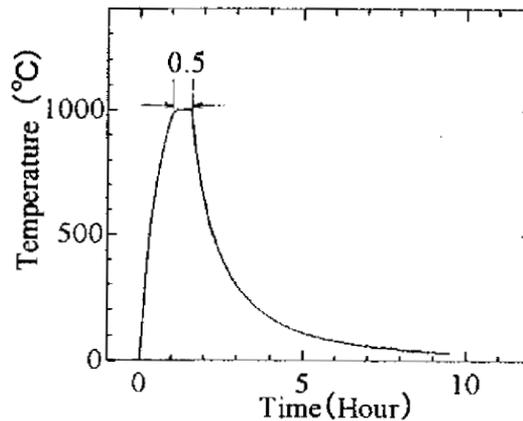


図2 アニーリング工程
Fig.2 Annealing profile

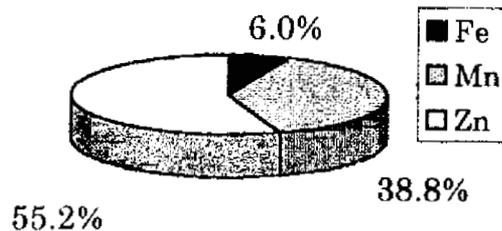


図3 COTの金属成分
Fig.3 Metal components of COT

アニールは1000℃で30分間行った。膜厚は、1.5μmである。

図4はCOTの外形を示す。アルミナ基板(縦:6mm,横:10mm,厚さ:0.8mm)の上に1.5μmのCOTが蒸着されており、その両端に銀電極が設置されている。

図5は、COTの抵抗の温度特性を示す。抵抗は温度の上昇に伴い減少する傾向を示し、著しい温度依存性をもつ。この傾向はサーミスタの特性に類似しており、半導体特性を持つことが分かる。COTのB定数は4000Kで、サーミスタより大きい値を示す。

図6は抵抗の湿度特性を示す。Rは湿度が増すと抵抗値が減少する傾向を持つ。同一湿度で、温度が高いほど抵抗が小さくなる。

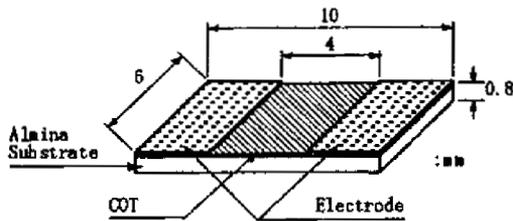


図4 COTの外形
Fig.4 Layout of COT

図5, 図6より, COTは温度と湿度依存性を有しているが, 図5の特性は温度センサとして利用できる。

3. COTの酵素センサへの応用

酵素反応は定常, 定温, 定圧下で行われ, その大部分は発熱変化を伴う(エンタルピー変化)。この熱変化を簡易な測定装置で検出できれば, 容易に反応系物質を定量できる。多成分系であっても, 酵素を受容体として用いることで, 特定の分子やイオンを選択的に識別できる。

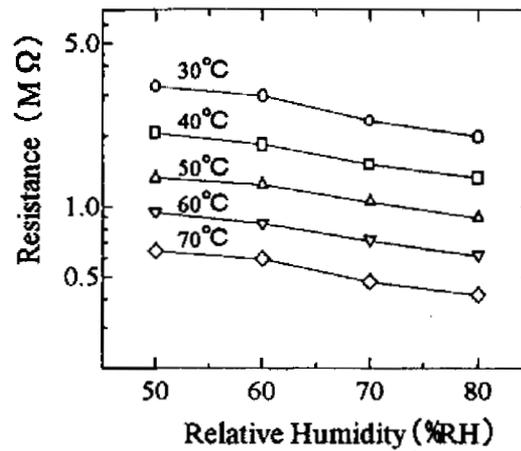


図6 抵抗の湿度依存性

Fig.6 Temperature dependence on resistance

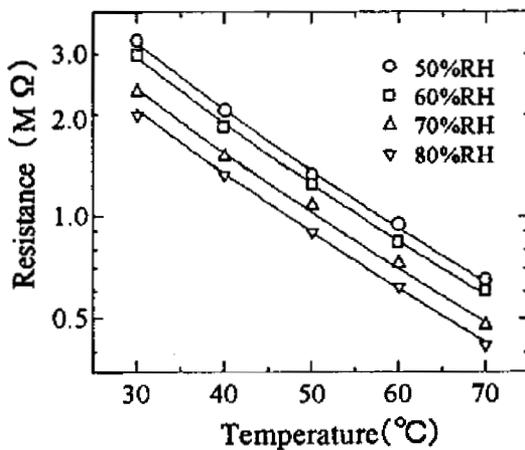


図5 抵抗の温度依存性

Fig.5 Temperature dependence on resistance

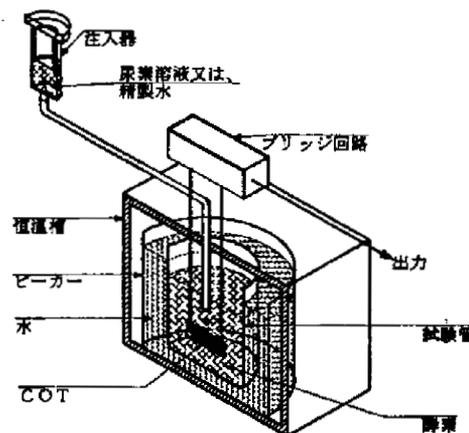


図7 COTを用いた酵素センサシステム

Fig.7 Enzyme sensor system utilizing COT

COT の抵抗の感温特性と酵素の触媒作用を利用すると酵素センサを構成することができる。

図7にCOTを用いた酵素センサシステムの構成を示す。実験では、酵素としてウレアーゼを、被試験物として尿素を用いて両者を滴下法により反応させてその反応熱をブリッジ回路により電圧に変換して計測を行った。

酵素ウレアーゼ水溶液 10ml を試験管に入れ、この中にCOTを浸しておく。COTにリード線を接続しブリッジ回路に導く。COTは防水のため、エポキシ系樹脂でコーティン

グした。試験管は水の入ったビーカーに設置して、恒温槽の温度を 35 °C に設置した。注入器には、精製水、または尿素水溶液をいれて、試験管に注ぐように配置した。尿素水溶液を注入すると、試験管のウレアーゼと反応して発熱し、COT に抵抗値の変化となって現れる。抵抗値の変化は、ブリッジ回路に導かれ電気信号に変換される。実験では酵素溶液濃度を 10mg/ml, 尿素水溶液濃度を 10mg/ml, 30mg/ml, 50mg/ml の場合について検討した。

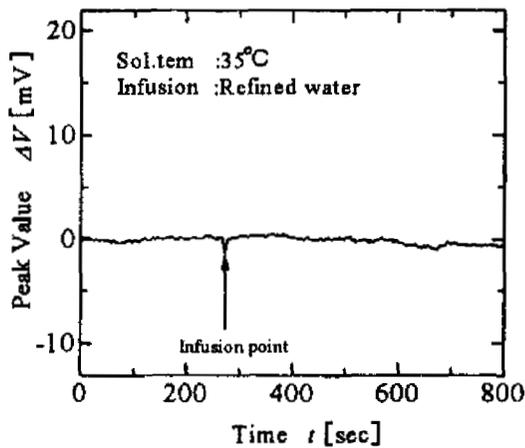


図8 精製水に対する過渡反応

Fig.8 Transient response to refined water

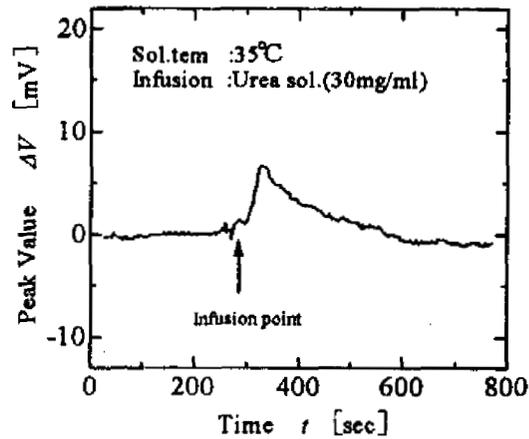


図10 尿素溶液に対する過渡反応

Fig.10 Transient response to urea solution

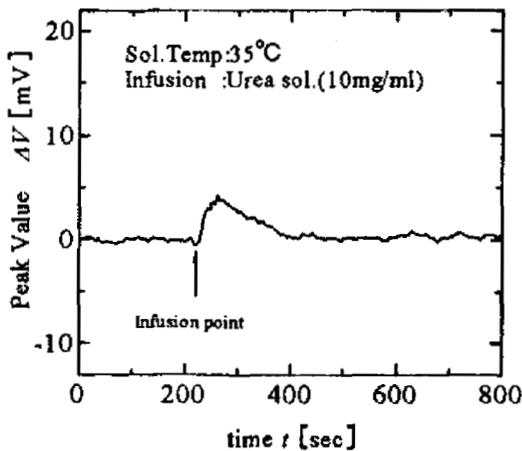


図9 尿素溶液に対する過渡反応

Fig.9 Transient response to urea solution

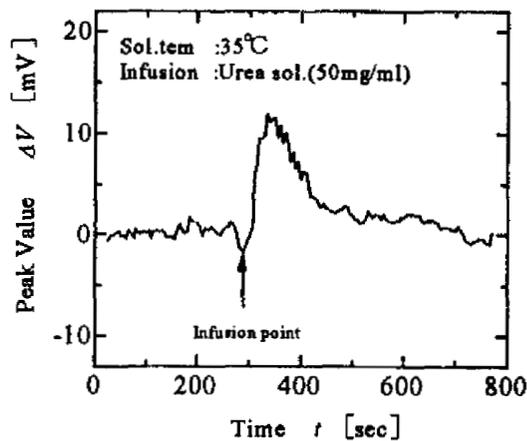


図11 尿素溶液に対する過渡反応

Fig.11 Transient response to urea solution

図8は、精製水に対するCOTの応答を示す。この実験は装置の安定性を確認するために行ったものである。最初ブリッジ回路の出力電圧のピーク値は零の状態であるが、精製水が、0.01ml注入されると、一瞬マイナスのパルス電圧が発生するが、直ちに消滅して零に移行し、以後そのままの状態を保持する。ウレアーゼは精製水に対し、一瞬温度を低下させるが、それ以後、出力電圧は零に保たれる。

図9は、尿素濃度10mg/ml溶液に対するCOTの応答特性を示す。尿素注入以前のブリッジ回路の出力電圧のピーク値は零であるが、尿素を0.01ml注入すると、一瞬マイナスの電圧が発生するが、その後、プラス方向に転じ、急峻な立ち上がりのパルスが発生する。パルス発生後、20秒で急激に減少し、200秒以後では緩やかに推移して、300秒で消滅する。このように、尿素はウレアーゼの触媒作用によってエンタルピー変化を生じ、その熱変化によって2.5mVのピーク値を持つパルス電圧が発生する。

図10は尿素濃度30mg/ml溶液に対するCOTの応答を示す。尿素0.01ml注入後、前図と同様一瞬マイナスの電圧が発生するが、その後、鋭いパルスが発生する。パルスのピーク値は7.5mVであり、10mg/mlの場合より大きく現れ、濃度によりピーク値に差が生じる。

図11は、尿素濃度50mg/ml溶液に対するCOTの応答を示す。尿素注入後、マイナスパルスが発生した後、鋭いパルスが発生した。パルスのピークは、12mVに達し、3者中最大である。

このように、尿素は酵素ウレアーゼに敏感に作用し、その発熱はCOTの抵抗値を低下させて、鋭いパルス電圧が発生することを確認した。一般に、加水分解系は酸化還元系より、エンタルピー変化が小さいので、より高

感度のセンサが必要であるが、COTはこのような要求に十分対応できるセンサと云える。

4. 結言

以上、真空蒸着法による複合金属酸化物半導体薄膜COTの作製と酵素センサへの応用について報告した。

COTは、亜鉛、マンガン及び鉄粉末を順次アルミナ基板に蒸着した後、アニーリング処理を施すことにより金属酸化物半導体に成膜したものである。COTの抵抗は、顕著な温度依存性を有し、温度が上昇すると減少する傾向を示し、B定数は、4000Kで、サーミスタよりも大きい。本方法で作製した薄膜は再現性が良く、蒸着時間を調整することにより所望の膜厚に成形することができる。COTの応用として熱型の酵素センサシステムを構成した。測定対象に尿素を取り上げ、受容体酵素にウレアーゼを用いて滴下法により酵素反応を試みたところ、COTの抵抗が急変して急峻なパルス電圧が得られた。パルス電圧のピーク値は、尿素濃度に依存しており、濃度が高いほどパルスのピーク値が大きくなることが分かった。

従来の熱型酵素センサとしてビードサーミスタを用いたものが知られているが、COTは薄膜であるため、ビード型に比べて熱容量が小さく、加水分解反応を伴う基質の定量化に適している。

従って、COTは、臨床化学分析、プロセス計測及び環境分析の分野に活用されることが期待される。

文献

- 1)二木久夫：「感温半導体」，産報出版(昭63)
- 2)加藤禎彦：「セラミック半導体」技研
- 3)菊池隆之，築瀬 仁，横田博久，千葉茂樹，長田 洋，関 享士郎，菊地新喜：「金属複合膜の作製とバイオセンサへの応用」，

電気関係学会東北支部連大 (平成8-8)

- 4)安宍善史, 長田 洋, 石井 修, 島津誠一,
千葉茂樹, 関 享士郎, 吉田豊彦:
「スツパタ法による感温磁性薄膜の作製と特性
評価」, 電気学会マグネティックス研究会
(平成8-8)
- 5)G.Decristoforo,B.Danielsson."Flow Injection
Analysis with Enzyme Thermistor Detector
for Automated Determination of β -
Lactams",Anal.Chem.56,(1984)
- 6)K.Mosbach,B.Danielsson."Thermal
Bioanalyzers in Flow Streams Enzyme
Thermistor Devices",Anal.Chem.53,1 (1981)
- 7)B.Danielsson."The Enzyme Thermistor
"Applied Biochemistry and Biotechnology"
,7,127-134(1982)
- 8)K.Mosbach,佐藤生男:「酵素サーミスター」,
蛋白質核酸酵素, 30,4,285-298(1985)
- 9)関 享士郎, 菊池隆之, 横田博久, 長田 洋,
築瀬 仁, 吉田豊彦:「複合金属酸化物半導体
薄膜の作製と酵素センサへの応用」, 電気学会
論文誌, vol.117-E, no.5, (1997)