

真空蒸着法による複合金属酸化物薄膜の作製と 酵素センサへの応用

Preparation of Composite Metal Oxide Thin Film by Vacuum Deposition Method and Application to Enzyme Sensor

○谷地 善光, 渋谷 龍史, 長田 洋, 千葉 茂樹, 吉田 豊彦, 菊池 孝,
関 享士郎, 高橋 強*

○Yoshimitsu Yachi, Tatsushi Shibuya, Hiroshi Osada, Shigeki Chiba,
Toyohiko Yoshida, Takashi Kikuchi, Kyoshiro Seki, Kyo Takahashi*

岩手大学, *岩手産技短大

Iwate University, *Iwate Industrial Technology Junior College

キーワード: 金属酸化物 (composite metal oxide), 真空蒸着 (vacuum deposition Method),
酵素センサ (enzyme sensor)

連絡先: 〒020-8551 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@iwate-u.ac.jp

1. 緒言

現在, サーミスター¹⁾やバリスタ²⁾をはじめとした多くの金属酸化物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。それらのほとんどはバルクまたは厚膜に成形して使用されている。しかし, 金属酸化物は材料である酸化物の融点が高いため, 容易に薄膜状に作製出来ず, また均一な組成のものが得られにくい。

筆者等は鉄, ニッケル, マンガンを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, アニーリング処理により金属成分比に大きな変化もなく, 融点の高い複合金属酸化物半導体薄膜 COT (Composite Metal Oxide Thin-Film)が作製できる^{3,4)}。COT の膜厚は約 1.0 μ m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 程度の

微小温度変化を測定する高感度温度センサとして活用できる。ここでは、COT の作製方法と、その応用として酵素反応熱を利用して生体物質を識別する酵素センサシステムについて報告する。

2. COT の作製と基礎特性

金属酸化物薄膜を作製するには、金属酸化物粉末を融点以上の高温で加熱して蒸着させるフラッシュ法等があるが、この方法は材料の組成と薄膜の組成に相違が生じたり、ポートの金属成分が薄膜に入り込むなどの欠点があり、所定の素子の作製が難しいという問題があった。COT は、温度係数が微少である金属で多層膜を形成した後、酸化させる事で金属成分比に大きな変化もなく半導体化し、温度係数の高い金属酸化物デバイスとなる。

図 1 は COT の作製工程を示す。まず、基板の上に Ni, Mn, Fe の薄膜を形成する。各金属薄膜は、それぞれの金属粉末を抵抗加熱法による真空蒸着法にて重量成分比が、Ni : Mn : Fe = 2 : 3 : 1 となるように膜厚を調整し順次蒸着した。真空蒸着装置の真空度は 3.0×10^{-5} (Torr) である。ポートの通電電流は Ni の場合、約 30A, Mn と Fe は約 40A である。蒸着時間は 10 分~20 分とした。また、基板は熱処理に耐える耐熱性があり、かつ、試料に電気的な影響を与えないアルミナ基板を用いた。次いで、電気炉にて 1000°C で 15 分~90 分間大気中でアニーリング処理を行った後、両端に銀電極を蒸着し COT が作製される。

図 2 は、アニーリングの温度プロファイルを示す。アニーリング工程は温度上昇、定温保持および冷却のプロセスで行われる。

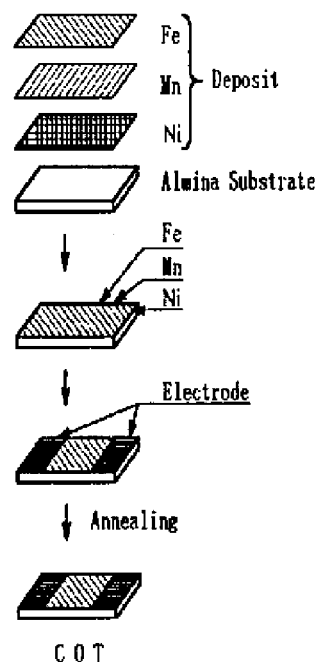


図 1 複合金属酸化物薄膜 COT の作製工程
Fig.1 Preparation process of composite metal oxide thin-film COT.

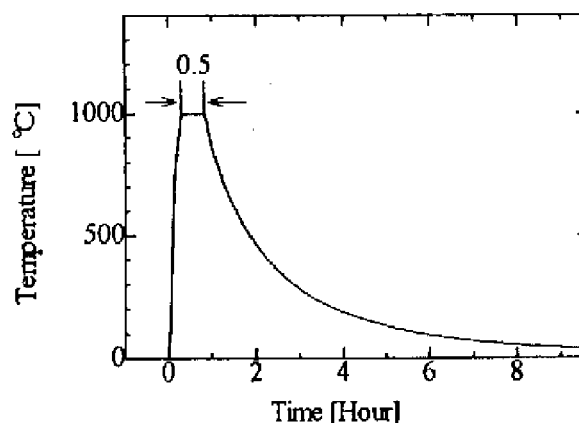


図 2 アニーリング工程
Fig.2 Annealing profile.

ここで、温度上昇を経て、最高温度の定温保持の工程で Ni, Mn, Fe の金属膜は固溶体となり、炉内の酸素と結合して金属酸化物に転換する。冷却工程では薄膜にクラックが生じる危険性があるため、冷却時間を約 8 時間とした。

図 3 は定温保持温度および時間をそれぞれ 1000°C, 30 分とした COT の金属成分の定量分析結果を示す。同図より、Ni, Mn,

Fe の金属重量成分比は 33 : 50 : 17 となっており膜厚は $1.0\mu\text{m}$ 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 $1.0\mu\text{m}$ の金属膜が蒸着されており, その両端に銀電極が設置されている。

図5は, COT の拡大表面写真である。粒子が緻密に結合されていることがわかる。また, 冷却に時間をかけているためクラックは生じていない。

図6は, アニリング工程の定温保持時間を 15分~90分と変化させた場合の COT の抵抗の温度特性を示す。いずれの場合も COT の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有しており, サーミスタの特性に類似した半導体特性を示すことが分かる。また, 定温保持時間が 30分を境に長くなるに伴い, 全体的に抵抗値が高くなる傾向を示している。

COT の抵抗はサーミスタ同様, 次式で表せる。

$$R = R_0 e^{B/T} \dots\dots\dots (1)$$

ただし, R_0 と B は定数, T は温度である。

上式から, R は温度依存性を有し, 温度が上昇すると低下することが伺われる。

また, 温度係数 α は下式で示される。

$$\alpha = \frac{1}{R} \frac{dR}{dT} \dots\dots\dots (2)$$

式(2)より, COT の温度係数 α は-4.9%であり, 一般的に使用されているサーミスタと同等かそれ以上であり, 温度センサとして利用できる。

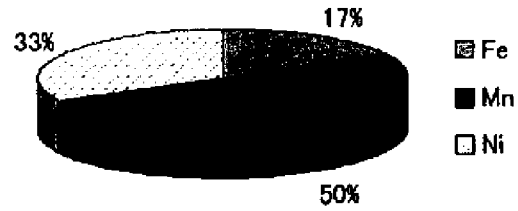


図3 COTの金属重量成分
Fig.3 Metal components of COT.

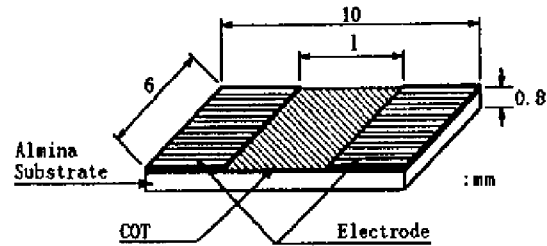


図4 COTの概形
Fig.4 Layout of COT.

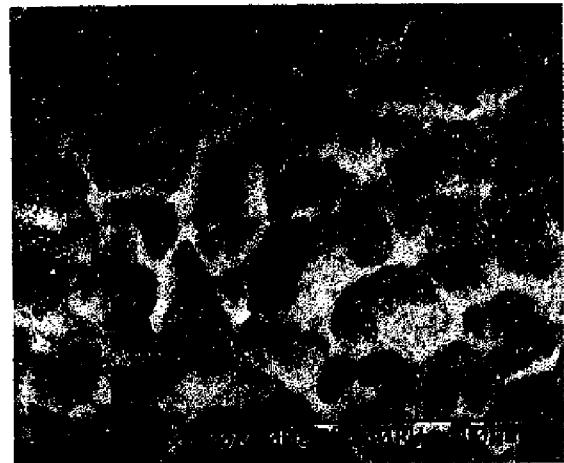


図5 COTの表面
Fig.5 Magnified surface of COT.

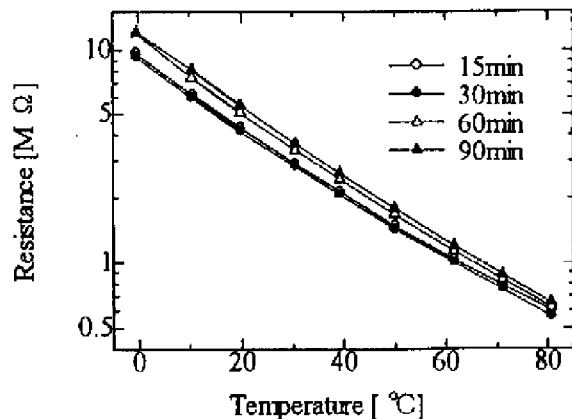


図6 抵抗の温度依存性
Fig.6 Temperature dependence on resistance.

3. COTの酵素センサへの応用

酵素センサは $10^{-2} \sim 10^{-4}^{\circ}\text{C}$ という微少な温度変化をとらえ、試料中の特定酵素成分を計測するバイオセンサである。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。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。

反応系における熱変化量を Q とすれば、 Q は次式で与えられる⁹⁾。

$$Q = C_p \times \Delta T = -n_p \times \Delta H \dots\dots (3)$$

ただし、 C_p は熱容量、 ΔT は温度変化、 n_p はモル数、 ΔH はエンタルピー変化量である。

したがって、反応系の温度変化 ΔT はすれば、特定成分の濃度を求めることができることから、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はCOTを用いた酵素センサシステムの構成を示す。被試験物を入れた試験管中にCOTを浸し、精製水、または酵素を注入器により試験管内に注入すると試験管内で酵素反応が起こり反応熱が発生する。この酵素反応熱によるCOTの抵抗値変化をブリッジ回路により電気信号変化へと変換して出力する。COTはノイズ等を考慮し、抵抗値の一番低い定温保持温度および時間をそれぞれ 1000°C 、30分としたものを用い、COTの保護のためエポキシ系樹脂でコーティングを行う。また、反応熱が微少であることから、外部からの熱の影響を抑えるため試験管は水の入ったビーカー

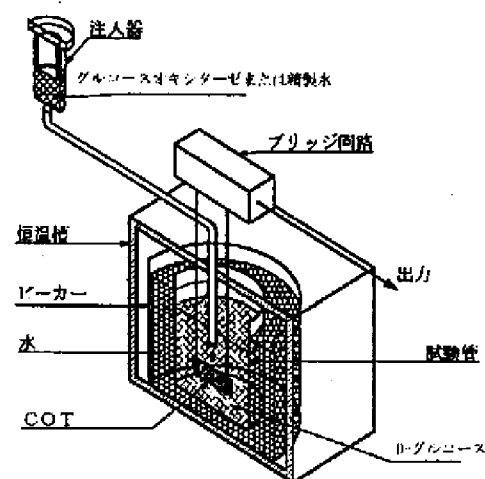


図7 COTを用いた酵素センサシステム
Fig.7 Enzyme sensor system utilizing COT.

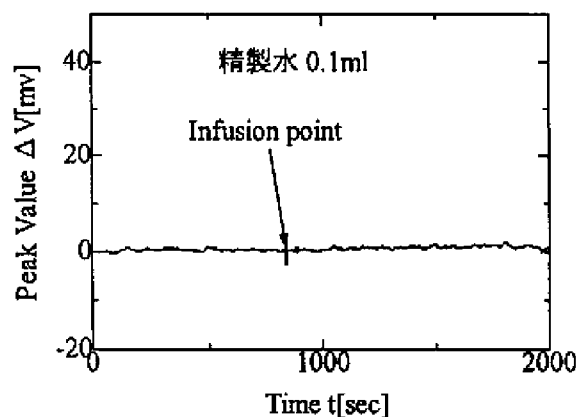


図8 酵素グルコースオキシターゼ溶液
に対する過渡反応
Fig.8 Transient response to refined water.

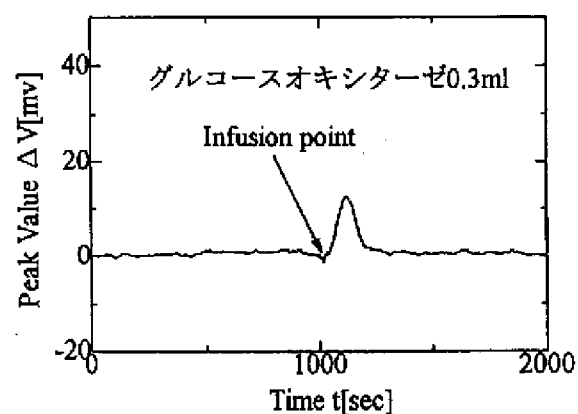
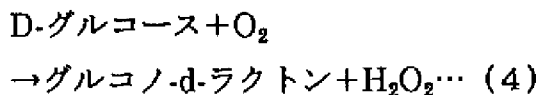


図9 酵素グルコースオキシターゼ溶液
に対する過渡反応
Fig.9 Transient response to Glucose Oxidase solution.

に入れ、全体を恒温槽内に設置し温度を 35°C に保持する。

酵素反応熱試験には、酵素としてグルコ

ースオキシターゼを、被試験物として D-グルコースを用いた。グルコースオキシターゼ酵素に対する D-グルコースの酵素反応式は次式で与えられる。



この反応系の熱量変化 ΔH は、80[KJ/mol]である。実験では、D-グルコース水溶液濃度を 150mg/ml、酵素溶液濃度を 10mg/ml とし、D-グルコース水溶液 20ml を試験管に入れ、酵素滴下量を 0.3ml、0.5ml とした場合について検討した。

図 8 は D-グルコース水溶液に精製水を注入した場合の COT の応答を示す。最初ブリッジ回路の出力電圧は定常状態で安定しているが、精製水が 0.1ml 注入されると、僅かにパルス状電圧が発生した後直ちに安定している。

図 9 は D-グルコース水溶液に 0.3ml のグルコースオキシターゼ水溶液を注入した場合の COT の応答を示す。グルコースオキシターゼ注入後、精製水注入時とは異なる酵素反応熱と見られるパルス状の電圧変化が見られる。パルスのピーク値は 13.2mV であった。

図 10 は、グルコースオキシターゼ水溶液を 0.5ml 注入した場合の COT の応答を示す。図 9 と同様に、グルコースオキシターゼ注入後パルス状に電圧が発生し、その後消滅している。パルスのピーク値は 27.0mV に達している。

以上から、COT は D-グルコースとグルコースオキシターゼの酵素反応熱を検出しており、かつその濃度に応じた抵抗値変化をすることが分かる。

今回行った酵素反応は発熱反応であった

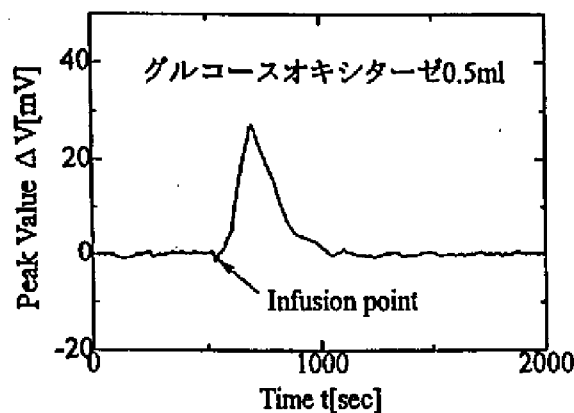


図10 酵素グルコースオキシターゼに対する過渡反応

Fig.10 Transient response to Glucose Oxidase solution.

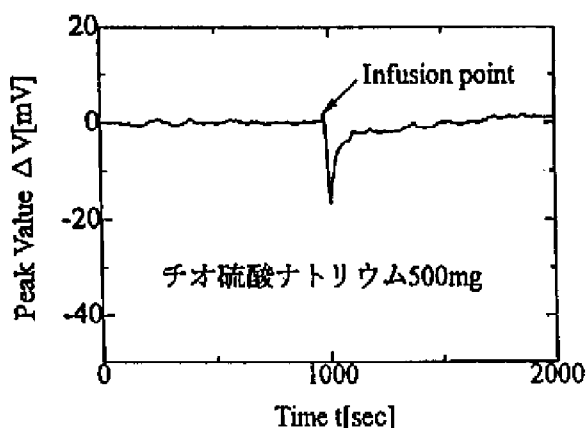


図11 チオ硫酸ナトリウムに対する過渡反応

Fig.11 Transient response to sodium hythiosulfate.

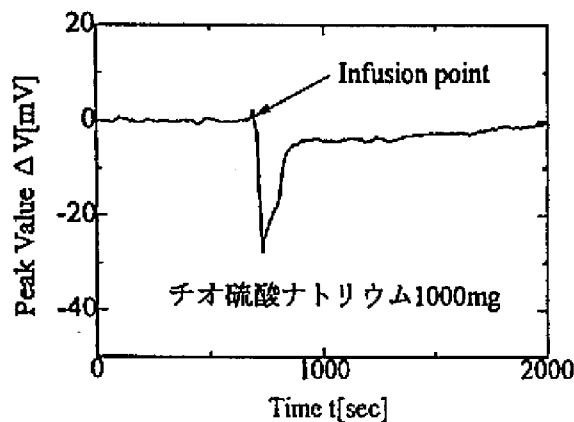


図12 チオ硫酸ナトリウムに対する過渡反応

Fig.12 Transient response to sodium hythiosulfate.

が、吸熱反応に対する COT の応答を試験するため、チオ硫酸ナトリウムの反応熱を用いた実験を行った。熱量変化 ΔH は、-47.4[KJ/mol]である。

図 11 は、精製水 100mg に対しチオ硫酸ナトリウムの粉末 500mg を注入した場合

の COT の応答を示す。チオ硫酸ナトリウム挿入後マイナス方向にパルス状電圧が現れている。ピーク値は-16.9mVであった。

図 13 は、チオ硫酸ナトリウムの粉末を 1000mg 注入した場合の応答を示したものである。ピーク値は-27.6mV に達し、500mg の場合の 1.6 倍程度の出力が得られた。

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、Ni, Mn, Fe の各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作製される。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、サーミスタと同等以上の特性を有する。本研究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、測定対象に酵素グルコースオキシターゼを取り上げ、受容体に D-グルコースを用いて滴下法により酵素反応を測定した際、発熱反応による COT の抵抗変化に伴うパルス状電圧が得られ、そのピーク値は酵素注入量に依存し、注入量が多い程値が大きくなることが分かった。

また、測定対象にチオ硫酸ナトリウムを用いて吸熱反応による応答を測定したところ、吸熱に対しても十分に測定できることが分かった。

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、より分解能を挙げられることが期待でき、基質の定量化に適していると思われる。したがって、COT は臨床化学分析、プロセス計測およ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：「感温度半導体」，産報出版（昭 63）
- 2) 加藤禎彦：「セラミック半導体」，技研，111~123（昭和 63）
- 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 2G7（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：「スパッ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 8-10）
- 5) G. Decristoforo, B. Danielsson: "Flow Injection Analysis with Enzyme Thermistor Detector for Automated Determination of β -Lactams, Anal.Chem. 56, 263-268 (1984)
- 6) K. Mosbach, B. Danielsson: "Thermal Bioanalyzers in Flow Streams Enzyme Thermistor Devices, Anal. Chem. 53, 1, 83A-86A(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」，蛋白質核酸酵素, 30, 4, 285-298 (1985)