

# 金属酸化物薄膜を用いた熱型バイオセンサシステム

## Thermal Biosensor System Utilizing Metal Oxide Thin Film

○田中 亘, 千葉 茂樹, 長田 洋, 田山 典男

○Wataru Tanaka, Shigeki Chiba, Hiroshi Osada, and Norio Tayama

岩手大学

Iwate University

キーワード: 金属酸化物薄膜 (metal oxide thin-film), 真空蒸着法 (vacuum deposition method), バイオセンサ (biosensor), 酵素反応 (enzyme reaction), 周波数解析 (frequency analysis)

連絡先: 〒020-8551 盛岡市上田 4-3-5 岩手大学大学院 工学研究科 電気電子工学専攻 長田研究室  
田中 亘, Tel. & Fax.: 019-621-6980, E-mail: t2302026@iwate-u.ac.jp

### 1. 緒言

熱計測デバイスとして広く実用化されているサーミスタ薄膜のような金属酸化物薄膜は, 一般に高融点材料であるため, 真空蒸着法での成膜が困難である. したがって, サーミスタ薄膜はスパッタ法により作製されてきた. しかし, スパッタ法ではターゲットの作製を要することなどから, 薄膜作製は容易ではない.

そこで本研究では融点の低い金属 (Fe, Ni, Mn 等) を用いて真空蒸着法で金属多層膜を形成後, 高温で焼成処理を施して金属酸化物薄膜を作製する方法を開発した. 本方法により作製された薄膜は, 焼成処理前後の成分比に大きな変化がなく良好な再現性が得

られる.

本方法により作製した金属酸化物薄膜 MOT (Metal Oxide Thin-Film) は, 顕著な感温性を示し, 微小な温度変化を計測する高感度温度センサとして活用できる.

本報告では, MOT をセンサとして用いて構成した, 熱型バイオセンサシステムの一つである, 酵素センサシステムについて報告する.

### 2. MOT の作製工程と基礎特性

Fig. 1 に金属酸化物薄膜 MOT の作製工程を示す. 約  $3.0 \times 10^{-5}$  Torr 以下の真空中にて, Fe, Ni, Mn を真空蒸着装置でアルミナ基板上にそれぞれ順次蒸着したあと, 電気炉によ

り焼成工程を施し、Ag 電極を蒸着しエポキシ系樹脂でコーティングした。なお、蒸着する金属の重量成分比は Fe : Ni : Mn = 1 : 2 : 3 とし、焼成は空气中で 1000°C、30 分間行った。焼成における最高温度での定温保持工程において、Fe, Ni, Mn の各金属層は、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。その後、冷却工程は薄膜にクラックが生じる危険性を回避するため、徐冷（冷却時間を約 9 時間）とした。

Fig. 2 および Fig. 3 に作製した MOT の形状および温度-抵抗特性を示す。同特性は、MOT を恒温槽内に設置して槽内の温度を 0 ~ 80°C まで変化させたときの抵抗値を測定した。同図より、MOT は温度上昇に対して抵抗が指数関数的に減少することがわかる。また、MOT の抵抗値は形状および電極間距離により大きく異なり、電極間距離が短くなるほど、また横型より縦型の方が電極の断面積が大きくなる分、小さな値を示す。縦型 MOT の抵抗値は、横型 MOT の約 1/4 の抵抗値となった。本研究では、出力信号の S/N 等を考慮して、縦型の MOT を微小温度センサとして用いた。

### 3. 熱型バイオセンサシステム

酵素と基質との触媒作用は微小な温度変化を伴うため、その温度変化をセンシングすることで、酵素反応の有無を確認できるとともに、酵素や基質の識別や定量ができる。MOT は優れた感温性を有しているため、高感度な熱計測デバイスとして熱型バイオセンサシステムに応用できる。

Fig. 4 は、MOT を微小温度センサとして用いた熱型バイオセンサシステムの構成を示す。試料溶液を専用容器に入れ、中心に MOT

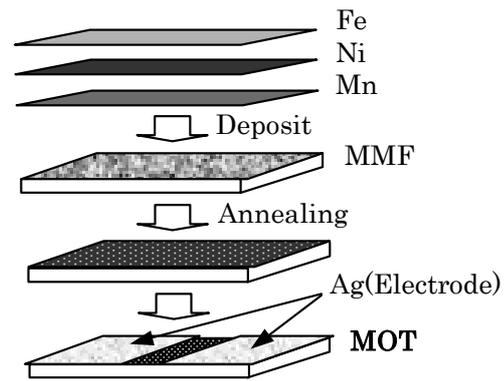


Fig. 1 MOT の作製工程

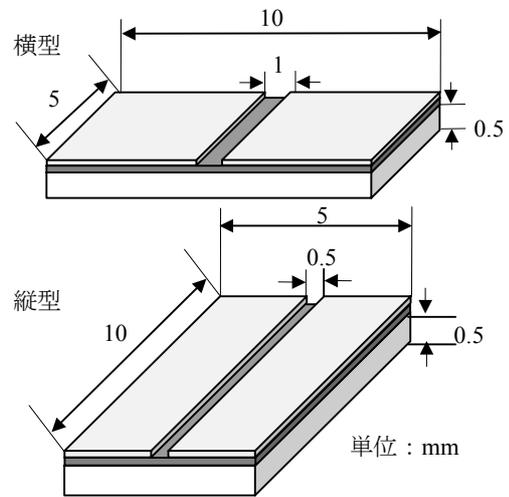


Fig. 2 MOT の形状

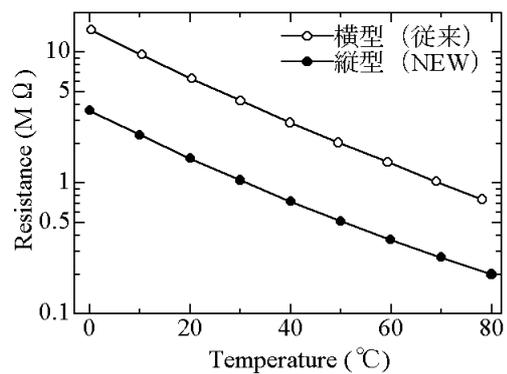


Fig. 3 MOT の形状および温度-抵抗特性

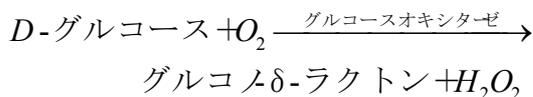
を設置する。酵素溶液をマイクロチューブポンプにより一定の速度と量で注入すると、容器内で酵素反応が起こり反応熱が発生する。

この酵素反応熱を MOT の抵抗値変化により検出し、ブリッジ回路により電圧信号に変換してコンピュータに取込む。ブリッジ回路の印加電圧は 2.0 V である。また、反応熱が微小であるため、外部からの熱干渉を抑えるため、断熱材を設けた。

#### 4. 熱型バイオセンサシステムの酵素反応特性

Fig. 5 は、精製水および被測定物質として D - グルコース溶液（濃度： $1.0 \sim 3.0 \times 10^{-2}$  mol/l, 容量：5 ml）を用い、グルコースオキシターゼ酵素溶液（0.1 wt%, 0.5 ml）を滴下した場合の出力電圧  $V_o$  の特性を示す。

なお、これらの溶液の反応式は下式で表される。



同図より、精製水へ酵素溶液を滴下した場合には、エンタルピー変化を伴わないため、応答を示さないが、D - グルコースに対してはパルス状の反応が見られる。また、濃度が高くなるに従って、出力電圧のピーク値も増大し、D - グルコース濃度  $1.0 \times 10^{-2}$ ,  $2.0 \times 10^{-2}$ ,  $3.0 \times 10^{-2}$  に対して、それぞれ 8.2 mV, 15.9 mV, 23.8 mV の値を示した。また、いずれの濃度においても、パルス状出力電圧発生後、次第に元の値に戻るため、本システムが酵素反応熱のみを検知していることが分かる。

Fig. 6 は D - グルコースの濃度と出力電圧のピーク値  $V_p$  との関係を示す。同図より、濃度と出力電圧のピーク値との間に直線的な関係が得られることがわかる。したがって、同図を検量線として用いることで、出力

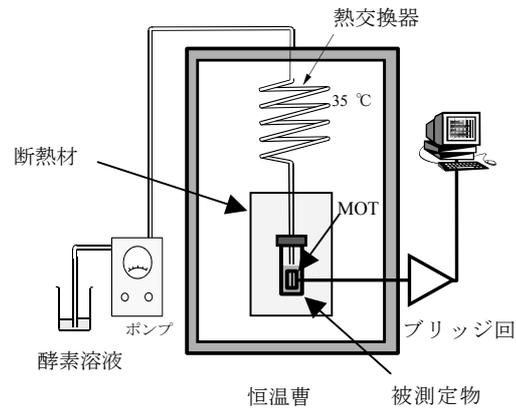


Fig. 4 MOT を用いた 酵素センサシステム

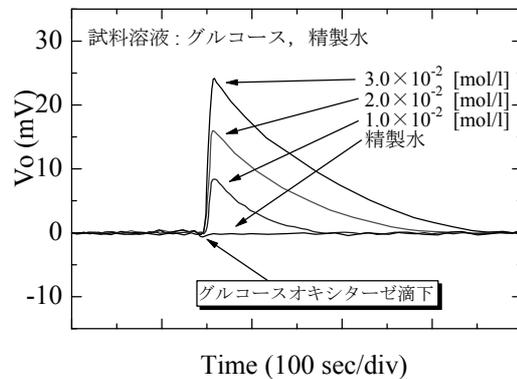


Fig. 5 D-グルコースに対する出力特性

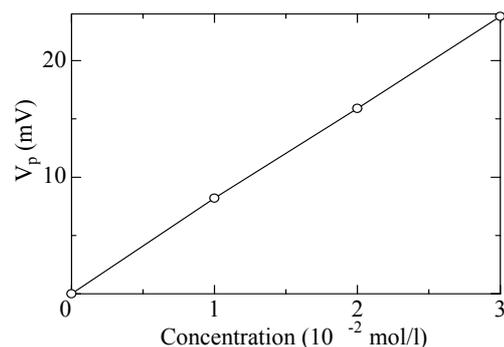


Fig. 6 D-グルコースの濃度出力ピーク値特性

電圧のピーク値から被測定物質の定量が可能である。

## 5. 酵素反応の選択性に関する実験

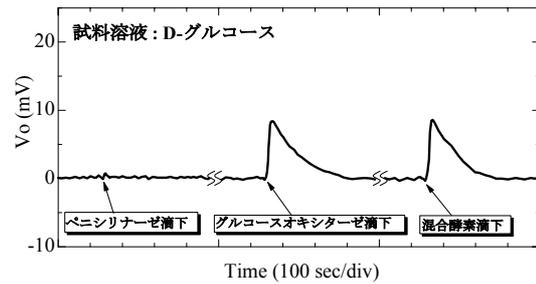
酵素は、特定の物質にしか反応しないという反応特異性を有している。反応特異性を確認するために、種々の実験を行った。なお、実験で用いた試料溶液及び酵素は、それぞれ同濃度、同容量（試料溶液： $1.0 \times 10^{-2}$  mol/l, 5 ml, 酵素：0.1 w%, 0.5 ml）である。

Fig. 7 (a) は、D - グルコース単体溶液にペニシリナーゼ、グルコースオキシターゼ、及びその 2 種類の混合酵素をそれぞれ滴下した際の応答特性である。ペニシリナーゼを滴下した際は応答が無かったが、グルコースオキシターゼを滴下した際は、8.2 mV のピーク値をもつパルス電圧が生じた。混合酵素を滴下した際もほぼ同じ波形が得られた。

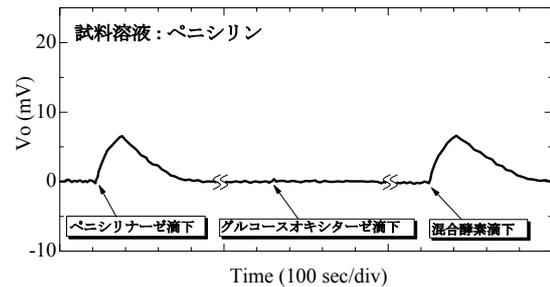
Fig. 7 (b) は、ペニシリン単体溶液にそれぞれの酵素を滴下した際の応答特性である。ペニシリナーゼと混合酵素を滴下した際は、6.5 mV のピーク値をもつほぼ同じ波形のパルス電圧が生じたが、グルコースオキシターゼを滴下した際は応答が無かった。

これらの結果から、試料溶液である基質は特定の酵素にのみ応答し、他の酵素には応答しないという鋭い選択性を有しているため、この現象を用いることで各種の生体物質の識別が可能である。

Fig. 8 は、D - グルコースとペニシリンの混合試料溶液に対してそれぞれの酵素を滴下した場合の応答特性である。混合溶液に対しては、パルス波形及びピーク値が異なり、ペニシリンとペニシリナーゼ、D - グルコースとグルコースオキシターゼがそれぞれ反応しており、試料が多成分系であっても厳密に反応選択性を再現できることが分かる。また、混合酵素を滴下した際は、凹凸のある波形が得られた。これは、それぞれの酵素と試



(a) グルコース単体



(b) ペニシリン単体

Fig. 7 単体溶液に対する酵素反応の選択性

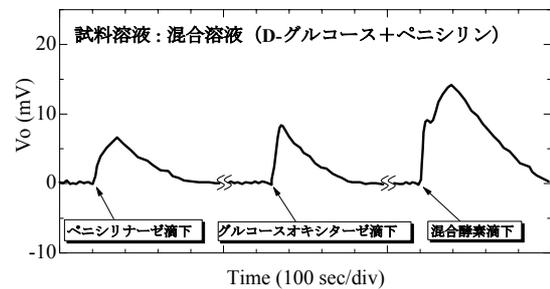


Fig. 8 混合溶液に対する酵素反応の選択性

料が反応する際の応答時間の差によるものであると思われる。

## 6. 今後の展開

本研究で作製した熱型バイオセンサシステムは物質の識別・定量が可能であるが、本システムには測定、および解析に長時間を有するという問題がある。そこで熱型バイオセンサシステムからの出力データを迅速かつ簡単に解析する方法を検討している。

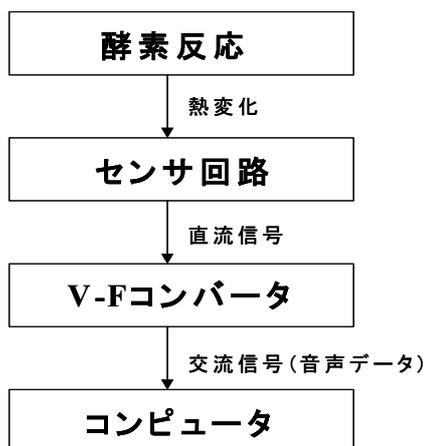


Fig. 9 音響データ取り込みの信号フロー

現在多くのコンピュータは、マイク入力やライン入力により音響信号（電圧変化）を取り込むことが出来る A-D 変換機能を内蔵している。この事に着目してセンサ回路の電圧データを音響データとしてコンピュータのオーディオ入力により取り込む方法が考えられる。

Fig. 9 にデータ取り込みにおける信号フローを示す。まず、酵素反応による熱変化を、MOT を用いた温度センサ回路により、直流電圧信号に変換する。次にその直流電圧信号を V-F コンバータを介して交流電圧信号（可聴周波数帯域）に変換する。この交流電圧信号をコンピュータのマイク入力端子より入力して音響データとして扱うことで、広く普及している市販コンピュータで容易に計測できるシステムが構成できる。また、汎用音響解析ソフトなどでリアルタイムでの周波数解析等が出来るようになり、測定から解析までを含めた計測時間の全体的な短縮が期待できる。

## 7. 結言

本研究では、真空蒸着法を用いて金属酸化物薄膜 MOT を作成して、その温度特性について実験した。そしてさらに MOT を熱型バイオセ

ンサシステムへ応用する研究を行い、センサの出力データの取り込み方法について検討した。以下に、本研究により現時点で確認されている事を列挙する。

- (1) MOT の温度-抵抗値特性を考察した結果、温度に対して非常に顕著な温度依存性を示した。よって高感度な熱計測デバイスとして応用可能である。
- (2) MOT を熱型バイオセンサシステムに応用したところ、特定物質の濃度に比例した出力が得られた。よって、本システムにより被測定物質の定量が可能である。
- (3) 熱型バイオセンサ出力を交流電圧信号に変換し、コンピュータに音響データとして入力することにより、データの取込みおよび解析が容易となり、測定時間の短縮が期待できる。

本研究では、測定のさらなる高速化、装置の簡易化を目指し、現在以下の事項に対して検討を行っている。

- ・システムの熱平衡をアクティブに制御するための構成
- ・出力信号から不要な雑音を取り除くためのフィルタアルゴリズムの検討
- ・熱解析モデルを作製するためのパラメータ（熱抵抗、熱容量等）の測定

## 参考文献

- 1) 軽部征夫, 民谷栄一:「バイオエレクトロニクス」, 朝倉書店 (1994)
- 2) 田中渥夫, 松野隆一:「酵素工学概論」, コロナ社 (1995)
- 3) 田中 亘, 千葉茂樹, 田山典男, 長田 洋: 金属酸化物薄膜を用いた熱型バイオセンサの特性評価, 平成 15 年度電気関係学会東北支部連合大会, [IE9] (2003.8.21)