特集・環境の簡易測定の実況と将来

マイクロマシニングによる水質の簡易分析技術の動向

脇田 慎一*

1. はじめに

マイクロマシニング技術の進展を背景として、計測機器や分離分析機器の「マイクロマシン」化の研究が、最近活発に展開されている。この研究分野は、マイクロ化学分析システム (Micro Total Analysis Systems; μ TAS) と呼ばれており、遠くない将来の簡易測定技術、特に環境分野での携帯型測定機器のハードを担う技術として注目される分野である。

マイクロマシニングは、通産省のプロジェクトで取り上げられた「マイクロマシン」を支える基盤的な技術であり、その技術を用いることにより、超小型の素子や集積化システムを立体的に作製することが可能となる。少し専門的に解説すると、半導体リソグラフィ技術 (例えば、異方性エッチング) や接合技術 (例えば、シリコンとガラス基板との陽極接合) などを総称した技術であり、シリコンやガラス基板上に複雑な3次元構造を持つ素子を製作することができる。詳細なマイクロマシニング技術に関しては、庄子と江刺の解説¹⁾を参考にされたい。

この分野の先駆的な研究として、すでに1970年代に、スタンフォード大学の Terry ら²⁾により、シリコン基板上にガスクロマトグラフィー (正確には、試料導入パルプ、キャピラリーカラムと熱伝導度検出器を集積化したガス分析システム) が作製された。非常に独創的な研究で一世を風靡した。その後、キャピラリーカラムに一般的なフューズドシリカを用いたハイブリッド型に改良されたが、この分析システムは携帯型のガスクロマトグラフィーとして実用化された。

このように、将来の携帯型分析機器の実用化には、この分野の技術開発が大きな貢献をすると容易に想

像される。ここでは、マイクロマシニングによる簡易計測・分析システムの研究動向に関して、マイクロ分析システムの実証を中心に研究動向を紹介する。システムの要素研究に関しては、庄子の解説³⁾を参考にいただければ幸いである。

具体的には、半導体イオンセンサ、ポーラログラフイー、フローインジェクション分析 (FIA)、液体クロマトグラフィー (LC) とキャピラリー電気泳動 (CE) などの電気化学や分離分析手法別に項目を分けて、研究の進展を概説した。

2. 半導体イオンセンサ

イオン選択性電界効果トランジスタ (ISFET) と呼ばれる半導体イオンセンサは、イオン検知膜と電界効果トランジスタとをゲート部に接合させた構造を持ち、ちょうど、pH ガラス電極と pH メータの初段増幅器をワンチップ化したセンサ素子に相当する。現在、理化学機器用の pH チェッカとして数社から実用化されている。

1970年代に、Bergveld と松尾らにより提案されたセンサであるが、後者の東北大のグループ⁴⁾により、研究の初期段階から、マイクロマシニングを用いてセンサ素子を作製する方法が検討された。ISFET は溶液中で使用するため、ISFET 素子を溶液から絶縁させることが必須であったためである。

図-1 に、松尾らが報告したセンサ素子の作製法の概略を示す。シリコン基板の両面を異方性エッチングによりセンサ部を完全に基板からくり抜き、両面から絶縁性の窒化ケイ素を膜形成させて素子を作製した点が大きな特徴である。この方法を用いた医療用の pH-ISFET が、世界に先駆けて、日本で初めて実用化された。

その後、マイクロマシニングを駆使した ISFET 素子が多数報告された。例えば、東芝総研の酒井ら⁵⁾

* 大阪工業技術研究所
Shin-ichi WAKIDA

図-1 全体を絶縁膜で保護した ISFET 作製法⁽⁴⁾

(a)異方性エッチング、(b)等方性エッチング、(c)リンのドーピング、(d)ほう素のドーピング、(e)イオン検知膜の成膜

図-2 マイクロマシニングを駆使した ISFET 素子⁽⁵⁾

は、電極リード線をセンサ素子の裏面から配線し、かつ、イオン検知膜の接合部にロッキング構造を持つ、図-2 に示すセンサ素子を報告している。

3. 集積化ポーラログラフイー

昨年、スタンフォード大学の Reay ら⁽⁶⁾により、アノードック・ストリッピング・ボルタンメトリーを集積化した電気化学分析システムが報告された。この手法は、水銀電極に各種重金属イオンを電解濃縮し、電位を逆掃引して特定の電位での電流量から、重金属イオンを定量する高感度測定法である。

彼らは、図-3 に示すように、微小な水銀滴下電極(円の内側)、比較電極(円)と作用電極(周辺部)を約 5 mm²に20個アレイ化し(上側)、ポテンショスタットや AD/DA コンバータなどの周辺回路も約 4 mm²に集積化した(下側)。そして、68HC11のマイク

図-3 集積化ポーラログラフイーの写真；集積化電極(上)および集積化ポテンショスタット(下)⁽⁶⁾

図-4 集積化ポーラログラフイーによる約25ppbのカドミウムおよび鉛イオンを含む環境水への応用⁽⁶⁾

ロコントローラに接続し、電池駆動の携帯型分析機器まで試作した。さらに、環境水中の重金属イオンの定量に応用し(図-4)、この分析機器の実証を行い、実用的な結果が得られたと報告した。かなり実用に近いレベルの研究であったが、学会では水銀使用の是非が議論された。電気分析化学の分野では、

水銀を使用しない液／液ポーラログラフイーの研究も進展しており、近い将来、この問題点は解決されるであろう。

4. マイクロ FIA システム

1980年代から東北大の庄子らの地道な要素研究(例えば、マイクロポンプなど)の積み重ねにより、1990年には、マイクロポンプ、サンプルインジェクタ、反応コイルとセンサをシリコン／ガラス基板上に集積化したマイクロ FIA システムが作製・実証された(図-5)⁷⁾。彼らは、実用化にはサンプルインジェクタなどの改良点が必要であると報告しているが、地道な要素研究の継続により、近い将来、実用的なマイクロ分析システムや機器の研究報告がなされるであろう。

5. マイクロ LC システム

1990年に遡るが、Manz ら⁸⁾はシリコン基板上に液体クロマトグラフィー(LC)を作製することを試みた。標準的なマイクロマシニングにより作製できる可能性を示すにとどまり、作製し実証することはできなかったが、学会では、 μ TAS の概念の優秀性を強調していた。

昨年彼らのグループ⁹⁾により、図-6 に示すスプリット型のサンプルインジェクタ、分離カラム、検

図-5 マイクロ FIA システム概念図(上)と断面図(下)⁷⁾

図-6 マイクロ LC システムのレイアウト(a)と分離カラム、検出セルの断面図(b, c)⁹⁾

IS: 試料導入口, S: スプリットインジェクタ, OS: 試料排水口, C: 分離カラム, F: フリッツ, D: 検出セル, OD: 排水口, P: 光ファイバ挿入口

図-7 集積化 LC システムによるフルオレセインとアクリジンオレンジの分離⁹⁾

試料濃度: 100mM, 固定相: Nucleosil 100-5-C8 (5 μ m)

出セルを集積化したマイクロ LC システムが作製された。このシステムの特長は、デッドボリュームが約2.5nl と非常に少ないことである。フルオレセインとアクリジンオレンジの分離(図-7)を行い、LC システムの実証を行っている。このシステムは空気圧による送液システムおよび光ファイバによる検出システムとを組み合わせる必要があり、彼らは、顕微鏡下でかなり熟練を要すること並びに充填剤の分離カラムへの充填法に技術的な課題があることを指摘している。

6. マイクロCEシステム

現在、 μ TAS の分野で最も注目を集めているのは、このマイクロCEシステムであろう。 μ TAS の概念を実証するために、1990年代初頭に、Manz¹⁰⁾とHarrison ら¹¹⁾は、液体クロマトグラフィーと比較して、機器の構成がシンプルな電気泳動装置のマイクロ化を検討した。

キャピラリー電気泳動 (CE) は、緩衝溶液を充填したキャピラリーの両端に高電圧を印加し、試料の電気泳動移動度の違いなどを利用する高性能分離分析法であり、現在さまざまな分離モードによる分離分析法の開発が精力的に展開されている。

図-8 に、サンプルインジェクタ、緩衝溶液導入口、分離カラム、検出セルをガラス基板に集積化したCEシステムを示す。通常のキャピラリー電気泳動装置では実現が困難なサンプルインジェクタをうまく設計作製している点が特長である。さらに、このシステムを用いて、フルオレセインで蛍光ラベルしたアミノ酸およびオリゴヌクレオチドを分離した結果を図-9 に示す。極短時間 (1 分以内) に超高性能分離が達成されていることがわかる。誘導体化アミノ酸の場合、ほぼ理論的な分離能 (5,800から

図-8 マイクロCEシステムのレイアウト(上)とガラス基板の写真(下)¹⁰⁾

①試料導入口、②緩衝溶液導入口、③別の緩衝溶液導入口、④試料排出口、⑤、⑥排出口

図-9 マイクロCEシステムを用いたCZE*でのフルオレセイン誘導体化アミノ酸(上)とCGE**でのフルオレセイン誘導体化オリゴヌクレオチド(下)の分離¹⁰⁾

(上) $10\mu\text{M}$ の試料を24mmの分離カラムで分離 ($1,060\text{ V/cm}$ の電場勾配)

(下) 10から25塩基の試料を38mmの分離カラムで分離 ($2,000\text{ V/cm}$ の電場勾配)

CZE*: キャピラリーゾーン電気泳動モード, CGE**: キャピラリーゲル電気泳動モードの略

160,000の理論段数)が得られ、誘導体化オリゴヌクレオチドも約200,000段の理論段数で分離され、しかも通常の装置と見劣りしない高い再現性が得られたことを報告している。後者のDNA関連の分離分析は、次々世代の遺伝子情報の超高性能解析装置として期待され、DNA増幅法であるPCR法のマイクロマシン化と併せて、現在精力的に研究開発が行われている。

さらに、Manz らは μ TASの特長を活かして、サイクリックに連続的に電気泳動させて、超高分離能を得るサイクリックCEの作製・実証やフィールド・フロー・フラクショネーションの集積化の研究

も進めている。

7. おわりに

電気化学計測器や分離分析機器の「マイクロマシン」化に関する最近の研究動向を紹介した。マイクロマシニング技術を背景とした μ TASの研究分野は、1990年代に生まれたばかりではあるが、今後も飛躍的な成長が見込まれる。一昨年のワークショップ（オランダのトゥエンテ）に続いて、今年11月に開催される第2回のワークショップ（スイスのバーゼル）での最新の成果発表が期待される。

今後、この研究分野は、アノードック・ストリッピング・ボルタンメトリーによる重金属イオンの高感度測定法のマイクロシステム化のように、具体的な応用分野を想定した高性能なシステムの開発や実証が行われるであろう。しかしながら、マイクロシステムの実証も大切であるが、そのシステムを支える構成要素の基礎研究の積み重ねがもっと重要である。例えば、構成要素であるポンプひとつとっても、技術課題が山積しており、基礎研究の確実な進展を期待したい。いずれにせよ、携帯型の分析機器のハードの技術革新となる、この研究分野の動向は目が離せない。

参 考 文 献

- 1) 庄子習一，江刺正喜：マイクロマシニングと化学センサ，集積化化学分析システム，電化，59，848-856(1991)。
- 2) Terry, S. C., et al., : A gas chromatographic air analyzer fabricated on a silicon wafer, IEEE Trans. on Electron Devices, ED-26, 1880-1886 (1979).
- 3) 庄子習一：マイクロ化学分析システム，次世代センサ，6，11-14 (1996)。
- 4) Matsuo, T. and Esashi, M. : Methods of ISFET fabrication, Sens. and Actuators, 1, 77-96 (1981).
- 5) Yagi, H. and Sakai, T. : Rear-gate ISFET with a membrane locking structure using an ultra high concentration selective boron diffusion technique, Sens. and Actuators, B13-14, 212-216 (1993).
- 6) Reay, R. J. et al., : Microfabricated electrochemical analysis system for heavy metal detection, Digest of Techn. Papers of the 8th Int. Conf. on Solid-State Sens. and Actuators, Vol. 2, pp. 932-935 (1995).
- 7) Nakagawa, S., Shoji, S. and Esashi, M. : A micro chemical analyzing system integrated on a silicon wafer, Proc. of IEEE Micro Electro Mechanical Systems, pp. 89-94 (1990).
- 8) Manz, A., Miyahara, Y., et al., : Design of an open-tubular column liquid chromatography using silicon chip technology, Sens. and Actuators, B1, 249-255 (1990).
- 9) Ocvirk, G., Verpoorte, E., Manz, A. and Widmer, H. M. : Integration of a micro liquid chromatography onto a silicon chip, Digest of Techn. Papers of the 8th Int. Conf. on Solid-State Sens. and Actuators, Vol. 1, pp. 756-759 (1995).
- 10) Manz, A. et al., : Capillary electrophoresis integrated onto a planar microstructure, 日化，47，1536-1541 (1994).
- 11) Harrison, D. J., Flury, K., Seiler, K., Fan, Z., Effenhauser, C. S. and Manz, A. : Micro machining a miniaturized capillary electrophoresis based chemical analysis system on a chip, Science, 261, 895-897 (1993).

わかり易い最新の環境計測・分析技術講座

A 5 判 137頁 定価3,900円（送料350円）

- 環境計測や分析業務に従事しておられる技術者へ，最新の技術をより深く理解するために
- その他環境関連分野でご活躍の方へ，計測，分析で得られた情報を十分活用するために
- 環境計測・分析分野への入門書として最適です

著 者 宗森 信（大阪府立大学名誉教授） 日色 和夫（京都教育大学教授）
黒田 大介（大阪府立工業研究所） 青木 豊明（大阪府立大学）
中原 武利（大阪府立大学） 奥野 年秀（兵庫県立公害研究所）
溝畑 朗（大阪府立大学付属研究所）

発行 環境技術研究協会/〒530 大阪市北区天満2-1-20 TEL 06-357-7611