



室蘭工業大学

学術資源アーカイブ

Muroran Institute of Technology Academic Resources Archive



縦波放射を利用したレイリー型表面弾性波の液相系センサーの開発とバイオセンシングシステムへの応用に関する研究

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2015-12-22 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 小川, 健吾 メールアドレス: 所属:
URL	https://doi.org/10.15118/00005133

縦波放射を利用したレイリー型表面弾性波の
液相系センサーの開発とバイオセンシング
システムへの応用に関する研究

小 川 健 吾

室 蘭 工 業 大 学

2015 年 10 月

目次

第一章 緒論

1.1 まえがき	1
1.2 表面弾性波の歴史的背景	6
1.3 レイリー表面波の物性	12
1.4 本研究の目的と構成	19

第二章 溝ホルダー型 SAW センサー装置の開発

2.1 まえがき	24
2.2 溝ホルダー型 SAW センサーの装置概要	
2.2.1 圧電材料	25
2.2.2 IDT 電極構造	30
2.2.3 溶液導入のための溝ホルダーの構造	37
2.2.4 測定装置	41
2.3 あとがき	47

第三章 溝ホルダー型 SAW センサーの電気特性

3.1 まえがき	48
3.2 パルス波を用いた伝播波形の観察	49
3.3 レイリー波の溶液中への縦波放射による伝播モデル	54
3.4 溝開口形状の幅の違いによる波の伝達時間測定	59
3.5 あとがき	69

第四章 バイオセンサーを想定した液体試料への応用

4.1 まえがき	70
4.2 グリセリン水溶液の測定結果	71
4.3 アデノシン物質の水溶液濃度の測定結果	73
4.4 生乳内の抗生物質セファゾリンの測定結果	77
4.5 免疫グロブリン(抗 GST 抗体)濃度, 牛血清アルブミン(BSA)濃度, 血液濃度の測定結果	80
4.6 あとがき	84

第五章 総括と今後について	
5.1 まとめ	85
参考文献	86
関連論文, 口頭発表	89
謝辞	90

第一章 緒 論

1.1 まえがき

酵素、微生物、抗体といった生体関連物質が有する分子識別機能を利用して、特異的な分子の計測を行うバイオチップが開発されてきた。特に、糖尿病におけるインスリン投与では血糖値のモニターが必須であり、血糖系を中心に健康・医療分野においてバイオチップは目覚ましい発展を遂げている。さらに、食品・発酵産業や環境計測などの多くの分野でバイオチップが活躍している⁽¹⁾。図 1.1 に示したように、2012 年には DNA(Deoxyribonucleic acid)診断検査の世界市場規模は 173 億米ドルを超えるものとなり、この市場は、全体として 2013 年から 2018 年までの間、12.6%の年平均成長率(CAGR ; Compound Annual Growth Rate)で拡大を続け、2018 年までに約 365 億米ドル規模に達すると予測されている。DNA 診断市場の中で最も急速な成長を遂げる分野はバイオチップ/ラボオンチップであり、この分野の市場規模は 2012 年には 17 億米ドルであり、この市場は 17%の年平均成長率で成長し、2018 年には 46 億米ドルになると予測されている⁽²⁾。

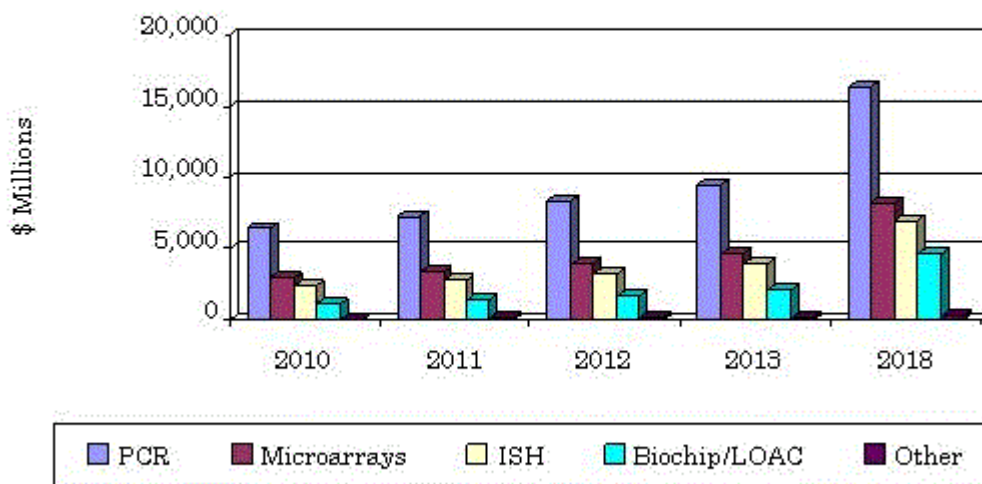
2011 年に日本の国民医療費は 38.5 兆円に達し、医療保険の財政赤字が深刻化している。将来、個人が自分の生体情報を遺伝子レベルで簡便に計測することができれば、自宅で血液成分や癌の検査等が行えるようになり、医療費の大幅な削減に繋がると考えられる。これを実現するためには、半導体微細加工技術、センサー技術、有機膜成膜技術、生体情報処理技術の融合したバイオチップの開発が不可欠となる。究極のバイオチップと呼ばれるラボオンチップは、ナノメートルレベルで高精度に加工した結晶基板上にマイクロオーダーの溝および流路を複数配列させた構造で、被検出物質を流路に流し込み、反応部位で特定の反応を電気信号に変換し、タンパク質反応等を瞬時に検出・解析するデバイスである。これまでのバイオチップは、簡便・迅速な小型分析器としての機能のみであった。それに対し、ラボオンチップは超高感度の電子デバイスを搭載し、チップ上で瞬時に分析する技術をもつ究極のデバイスである⁽³⁾。

図 1.2 に示したように、検出物質を分子識別素子(受容体)と反応させ物理量とし電気信号に変換する素子であるトランスデューサーで検知する場合、電子や化学物質が測定対象であれば半導体を用いた電界効果トランジスタ(FET ; Field Effect Transistor)、光量を検出するのであれば光電子増倍管(PMT ; Photomechanical

Transfer)や CCD(Charge Coupled Device)などが使用される。マクロな物質の質量を検出するトランスデューサーとして、水晶振動子マイクロバランス (QCM ; Quartz crystal microbalance) センサーや表面弾性波(SAW ; Surface acoustic wave) センサーが使われている⁽¹⁾。圧電体の内部を伝わるバルク波を用いた QCM センサーはすでに製品化され、周波数は水晶の厚みに依存し、5~30MHz 程度である。SAW は、圧電体表面に配置した櫛形トランスデューサー(IDT ; Interdigital transducer)電極に高周波を印加して発生させられる。その周波数は IDT 電極の幅に依存し、半導体プロセス技術で微細化することで容易に MHz 帯の周波数を発生できる。質量を検出するトランスデューサーで溶液の物性を測定する場合、高周波ほど高感度であることが知られており⁽⁴⁾、SAW センサーの研究が盛んに行われている^{(5),(6)}。これまで報告されている SAW の波の種類として、レイリー SAW のほか、横波型弾性表面波(shear horizontal-SAW ; SH-SAW)、横波型板波(shear horizontal acoustic plate mode ; SH-APM)、Love 波などがある。

現在、癌検出を目的とした医療分野で行われている免疫反応のセンシングである蛍光反応を利用した酵素結合免疫吸着法(ELISA : Enzyme-linked immunosorbent assay)について図 1.3 に示す⁽⁷⁾。ELISA 法は、高感度であるが標識とする抗体の種類を変える必要がある、蛍光状態で観察しているため、定量または反応経過を観察するには不向きである、また薬液が高価であるなどデメリットも多い。バイオセンサーのトランスデューサーに SAW を用いると、抗原抗体反応による溶液の特性や質量変化を直接電気信号に変換できる。このことから、蛍光物質が不要でリアルタイム計測が可能であり、得られたデータが周波数変化や位相変化として数値化されるため、定量的な判断が可能である。SAW センサーの製作に関しては、半導体プロセスと同じ技術が利用できるため精度が高く、量産性に富んでいるという特徴がある。これまで SAW 溶液センサーで着目されてこなかったレイリー波を用いた新しい溶液センサーを実現することを目的に本研究を開始した。第一章では SAW の歴史的背景、本研究で用いた SAW モードの一つであるレイリー波の物性について説明し、最後に本研究の目的と論文の構成について述べる。

SUMMARY FIGURE
 TOTAL GLOBAL MOLECULAR DIAGNOSTICS MARKET, 2010-2018
 (\$ MILLIONS)



Source: BCC Research

図 1.1 分子診断用検査チップの世界市場規模予測⁽²⁾

Fig.1.1 Total global molecular diagnostics market, 2010-2018.

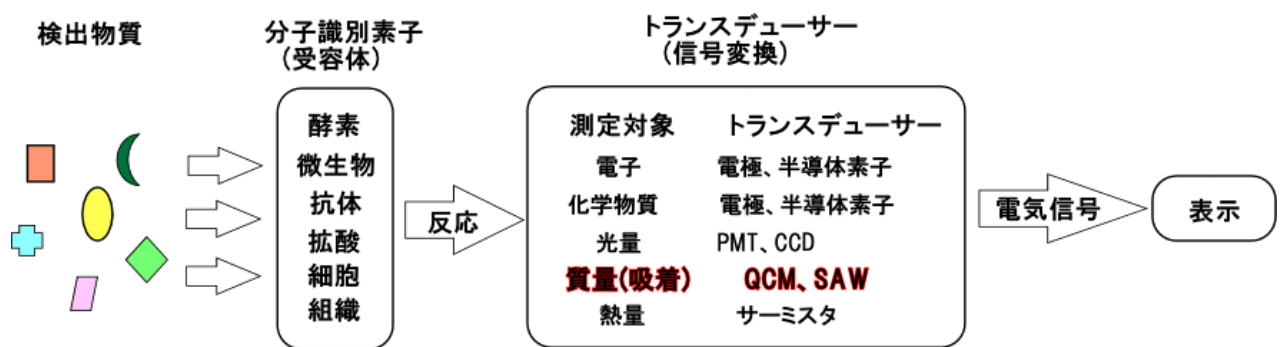


図 1.2 分子識別素子を利用した電気化学計測

Fig.1.2 Electrochemical measurements using molecular recognition element.

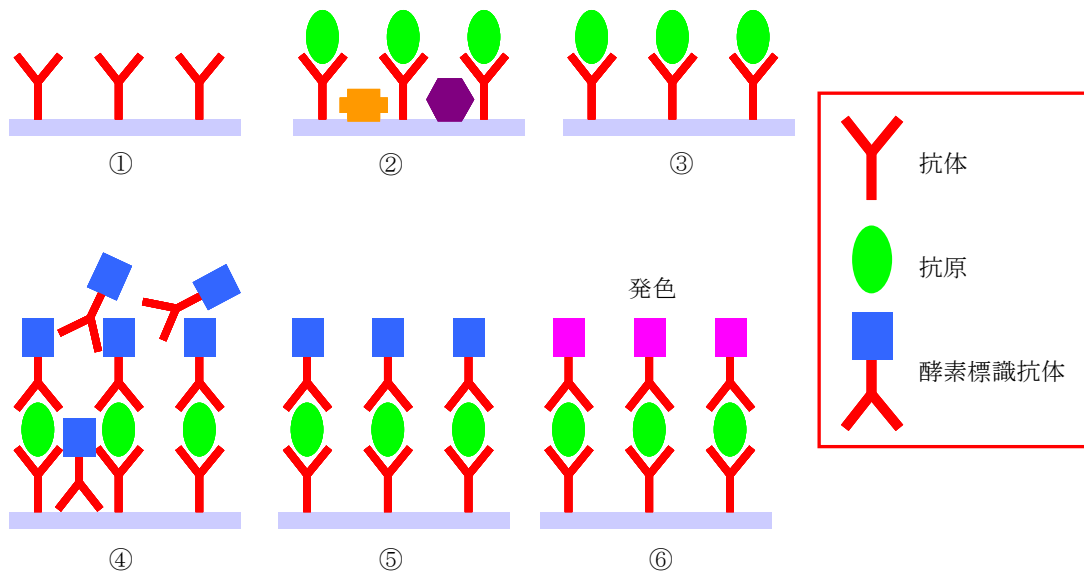


図 1.3 ELISA 法における抗原抗体反応測定

Fig.1.3 Measurement of the antigen-antibody reaction in the ELISA method.

- ① ガラス基板などに一次抗体を固定化する。
- ② 補足したい抗原を含む試料を滴下する。
- ③ 未反応の物質を洗浄する(夾雑物の排除)。
- ④ 蛍光物質を持つ酵素標識抗体(二次抗体)溶液を滴下し、抗原に吸着させる。
- ⑤ 未反応の酵素標識抗体を除去し、固着抗体+抗原+酵素標識抗体の構造を作る。
- ⑥ 発色基質液を加えることにより酵素標識抗体が発色する。
- ⑦ 発色程度を測定することにより試料中の抗原量を測定する。

1.2 表面弾性波の歴史的背景

SAW は媒質表面に沿って進む波であり、この波を用いたデバイスは携帯電話の妨害波を抑圧し、信号波のみを通す高周波フィルタや共振子として電子・通信機器に利用されている。

SAW の歴史としては、1885 年 Lord Rayleigh が半無限弾性体の表面に沿って伝播する弾性波が存在することを理論的に明らかにした⁽⁸⁾。SAW をセンサーとして応用する研究としては、1959 年 Sauerbrey らによる水晶振動子質量センサーの理論式の導出⁽⁹⁾、1979 年に Wohltjen らによる SAW ガスセンサーへの応用の報告などを経て、近年は、SAW を用いた匂いセンサーや免疫センサーへの応用研究が盛んに行われている^{(10),(11)}。SAW が利用されるようになったのは次のような特徴のためである⁽¹²⁾。

- ① 弾性波の伝播速度が電磁波の速度のおよそ 10^5 分の 1 と遅い。従って、同じ周波数の電磁波と SAW とを比べると SAW の波長は電磁波の波長の 10^5 分の 1 となり素子および装置の小型化が可能である。
- ② SAW の波動エネルギーが表面近傍に集中しているため、信号の発生、検出、制御を固体表面上で処理できる。このように媒質表面で信号処理ができることから、SAW と光や電子との相互作用を利用した複合デバイスの実現ができる。

表 1.1 は、SAW センサー、QCM センサーおよび光と共鳴を利用した表面プラズモン共鳴(SPR ; Surface Plasmon Resonance)センサーの 1983～2014 年に発表された論文件数の比較を示す(検索元: 科学技術総合リンクセンター“J-GLOBAL”)。

SPR は、金属ナノ粒子の可視-近赤外域の光電場とプラズモンが共鳴して光吸収を起こす角度を計測するセンサーで、高感度で検出でき注目が高い。しかし、高精度なプリズムと複雑な光学系を必要とするため、装置が非常に高額となるデメリットがある。

図 1.4 に QCM の測定原理図を示す。水晶基板に電圧を印加すると横方向へ厚みすべり運動を繰り返す。水晶基板上に形成した金膜上に吸着した質量負荷がエネルギー損失となり周波数変化として測定する。下記にその原理について説明する。

まず、共振周波数 f_0 は次式で表される。

$$f_0 \lambda_0 = v_0 \dots \dots \dots (1.1)$$

λ_0 は共振周波数での波長、 v_0 は音速である。

水晶振動子の共振は、 $t_0 = \frac{1}{2} \lambda_0$ ($\lambda_0 = 2t_0$)のとき、

$$v_0 = \sqrt{\frac{\mu_0}{\rho_0}} \dots \dots \dots (1.2)$$

t_0 は水晶基板の厚み、 μ_0 はせん断応力、 ρ_0 は質量密度である。式(1.1)に代入すると、

$$f_0 = \frac{1}{\lambda_0} v_0 = \frac{1}{2t_0} \sqrt{\frac{\mu_0}{\rho_0}} \dots \dots \dots (1.3)$$

水晶振動子表面に薄く何かが付着して厚みが $t_0 + \Delta t$ になったとすると、この時の共振周波数 $f_0 + \Delta f$ は、

$$\begin{aligned} f_0 + \Delta f &= \frac{1}{2(t_0 + \Delta t)} \sqrt{\frac{\mu_0}{\rho_0}} \\ &= \frac{1}{2t_0} \sqrt{\frac{\mu_0}{\rho_0}} \left(\frac{t_0}{t_0 + \Delta t} \right) \end{aligned}$$

式(1.3)を代入すると、

$$f_0 + \Delta f = f_0 \left(1 + \frac{\Delta t}{t_0} \right)^{-1}$$

$|x| \ll 1$ のとき $(1+x)^n \sim 1+nx$ の近似を使うと、

$$f_0 + \Delta f \sim f_0 - f_0 \frac{\Delta t}{t_0}$$

よって、

$$\Delta f = -\frac{\Delta t}{t_0} f_0 \dots \dots \dots (1.4)$$

付着した物体の質量 Δm は,

$$\begin{aligned} \Delta m &= \rho_0 \cdot \Delta V = \rho_0 \cdot (A \times \Delta t) \\ \therefore \Delta t &= \frac{\Delta m}{\rho_0 \cdot A} \dots \dots \dots (1.5) \end{aligned}$$

ΔV は付着物の体積であり，面積 $A \times$ 付着物の厚み Δt である。

式(1.3)から，

$$t_0 = \frac{1}{2f_0} \sqrt{\frac{\mu_0}{\rho_0}} \dots \dots \dots (1.6)$$

式(1.4)に式(1.5)，(1.6)を代入すると，

$$\begin{aligned} \Delta f &= -\frac{\Delta m}{\rho_0 A} \cdot 2f_0 \sqrt{\frac{\rho_0}{\mu_0}} \cdot f_0 \\ &= -\frac{2}{A} \cdot \frac{\Delta m}{\sqrt{\rho_0 \mu_0}} \cdot f_0^2 \dots \dots \dots (1.7) \end{aligned}$$

式(1.7)は，Sauerbrey の式⁽⁹⁾であり，面積 A に質量変化量 Δm が付着すると周波数変化 Δf を生じ，共振周波数の2乗に比例するため，高周波ほど高感度に検出できる。

図 1.5 に SAW の基本原理を示す。SAW の周波数は，圧電基板上に形成した IDT 電極幅に依存するため，半導体プロセス技術を用い IDT 電極幅を微細化することで容易に数百 MHz 帯を励振できる。また，SAW のエネルギーが物質表面近傍に集中しているため，表面での波の発生，検出，制御が可能であり，厚みすべり振動で検出する QCM よりも注目を浴びている⁽¹³⁾。図 1.3 に示したような抗原抗体反応などの分子吸着あるいは粘性による伝播速度の変化を SAW 伝播路上で起こさせれば発信周波数の変化として検出可能となる。

表 1.1 SAW, QCM, SPR センサー方式での論文件数(1983～2014 年)

Table.1.1 The number of articles in SAW, QCM and SPR sensor(1983～2014).

論文件数

年代	SAW	QCM	SPR
1983年～2014年	419	212	1151
2010年	33	19	104
2011年	27	26	95
2012年	24	7	95
2013年	38	18	108
2014年	32	10	72

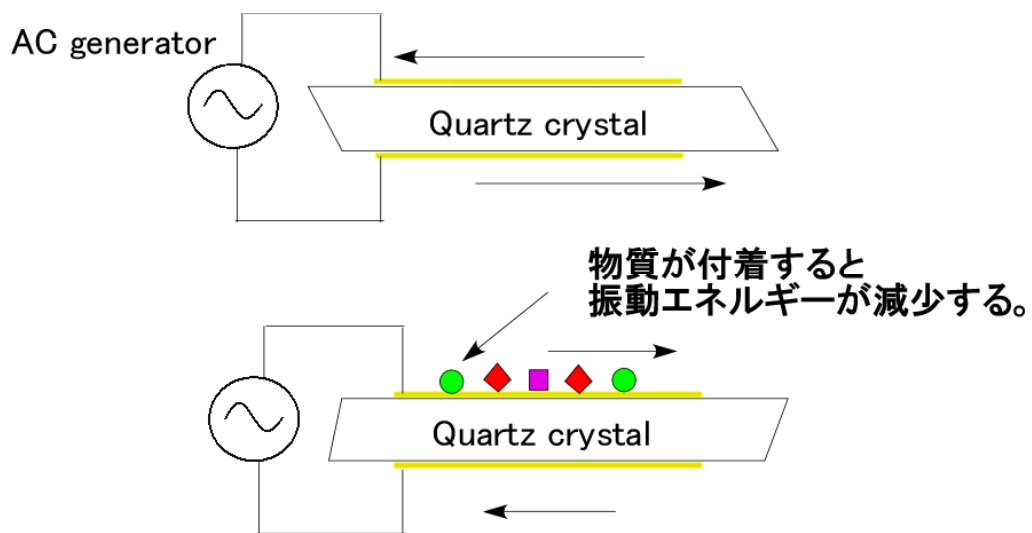


図 1.4 QCM の測定原理

Fig.1.4 Principle of a QCM measurement.

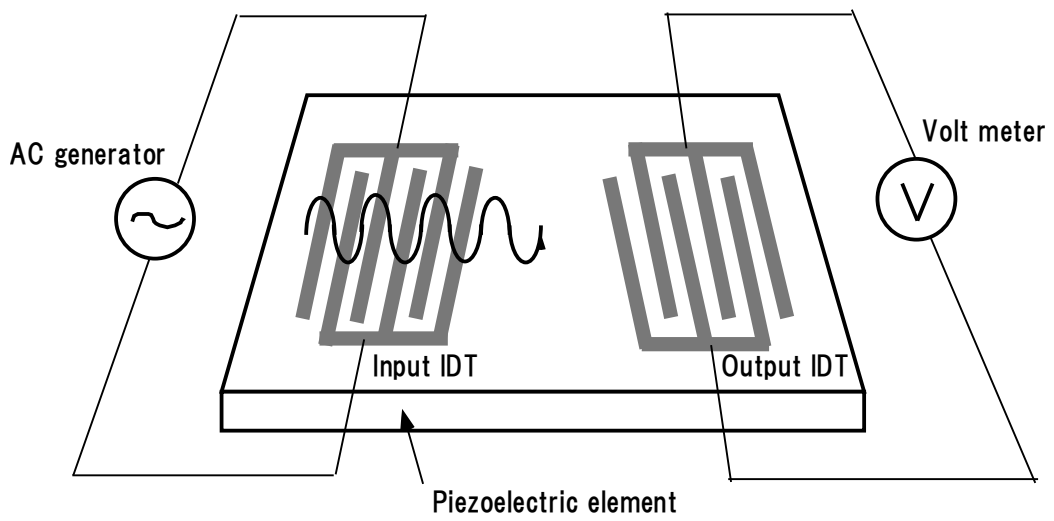


図 1.5 表面弾性波の基本原理概略図
 Fig.1.5 Schematic drawing of primordial of a SAW.

1.3 レイリー表面波の物性

SAW は、圧電体の薄膜もしくは基板上に形成された規則性のある IDT 電極により、特定の周波数帯域の電気信号を取り出す素子のことである。1885 年、イギリスのノーベル賞学者である Rayleigh は等方性半無限媒質の表面近傍にエネルギーが集中して伝播するレイリー波の存在を理論的に示した⁽⁸⁾。これまで報告されている SAW の波の種類として、レイリー SAW の他、横波型弾性表面波(shear horizontal-SAW ; SH-SAW), 横波型板波(shear horizontal acoustic plate mode ; SH-APM), Love 波などがある⁽¹³⁾。表 1.2 に各種弾性波センサーの主な基板材料と用途についてまとめた。レイリー波の性質は、 x_1 および x_3 方向の変位をもち、 x_1 方向に伝播し、 $-x_3$ (深さ)方向には減衰するような波動である(図 1.6)。圧電基板上のレイリー波伝播の概略図を図 1.7 に示す。この x_3 変位成分 u_3 ため、図 1.8 に示すようにレイリー波伝播面上に液体があると縦波が液体中に放射されながら進行する^{(14),(15)}。この縦波放射を利用した数十 MHz 帯の SAW センサーが提案されているが⁽¹⁶⁾、試料溶液をレイリー波伝播路上に固定するために用いるセル等が波の伝播に影響を及ぼし、観測する波の振幅が減衰される問題がある。そのため、レイリー波は、デバイス構造の問題から液相試料の測定には不向きであると考えられており、ガスセンサーや匂いセンサーなどの気相系で使われる応用例が多い。SAW の液相系センサーとしては、図 1.9 に示すような x_3 変位 u_3 をもたず x_2 方向の変位をもつ SH-SAW の研究が主として行われている^{(17),(18)}。図 1.10 に示すように、SH-SAW 伝播路上に試料溶液を置いた場合、 x_3 変位をもたないため、SAW 信号がほぼ減衰することなく試料溶液内を通過し、測定ができる特徴がある。SH-SAW を含め、基板の上下面で反射しながら伝播する板波である SH-APM, SH-SAW が伝播可能な圧電結晶面に薄膜を装荷した Love 波は、気相系、液相系どちらでも使用可能である。

表 1.2 各種弾性波センサーの主な基板材料と用途

Table.1.2 The main substrate material and the usefulness of various type of acoustic wave sensor.

	水晶振動子 (QCM)	レイリーSAW	SH-SAW	SH-APM	Love波
材料	ATカット水晶	STカット水晶等	36° YX-LiTaO ₃ ATカット水晶等	STカット水晶等	PMMA/STカット水晶等
振動モード	厚みすべり振動	レイリー波	すべり振動	すべり振動	すべり振動
気相系	ガスセンサ 匂いセンサ 膜評価	ガスセンサ 匂いセンサ 膜評価	ガスセンサ 匂いセンサ 膜評価	ガスセンサ 匂いセンサ 膜評価	ガスセンサ 匂いセンサ 膜評価
液相系	粘度・密度計 複素誘電率 バイオセンサ		粘度・密度計 複素誘電率 バイオセンサ	粘度・密度計 複素誘電率 バイオセンサ	粘度・密度計 バイオセンサ

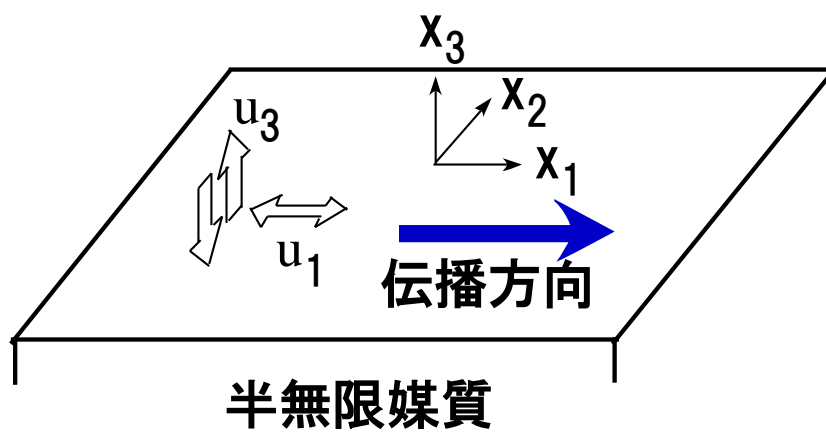


図 1.6 レイリー波の伝播変位の概略図

Fig.1.6 Schematic drawing of propagation displacement of SAW.

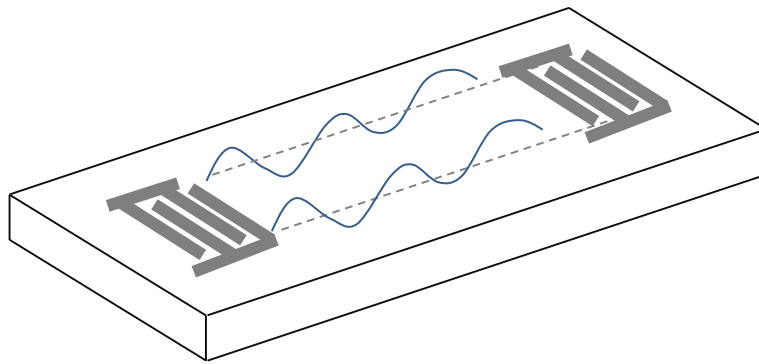


図 1.7 圧電基板上的のレイリー波の伝播概略図

Fig.1.7 Schematic drawing of the propagation of Rayleigh SAW on the piezoelectric element.

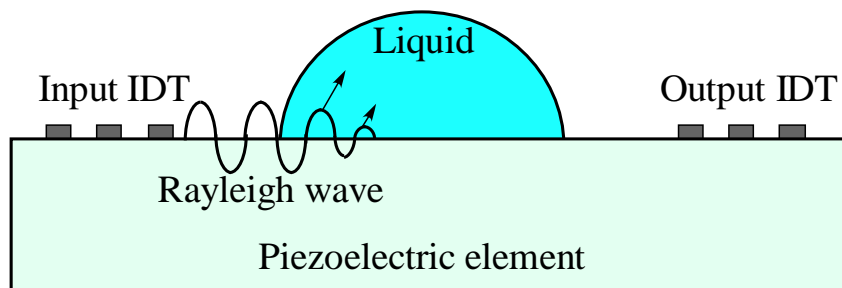


図 1.8 レイリー波伝播面上の液中への縦波放射の概略図

Fig.1.8 Schematic drawing of Rayleigh wave attenuation when arranges liquid reservoir on the propagation surface.

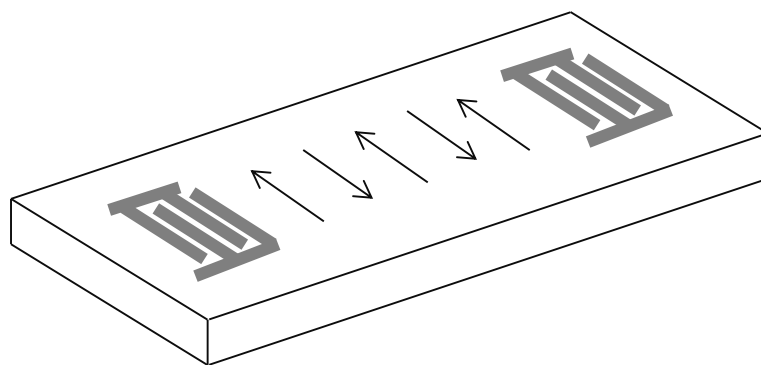


図 1.9 圧電基板上の SH 波の伝播概略図

Fig.1.9 Schematic drawing of the propagation of SH-SAW on the piezoelectric element.

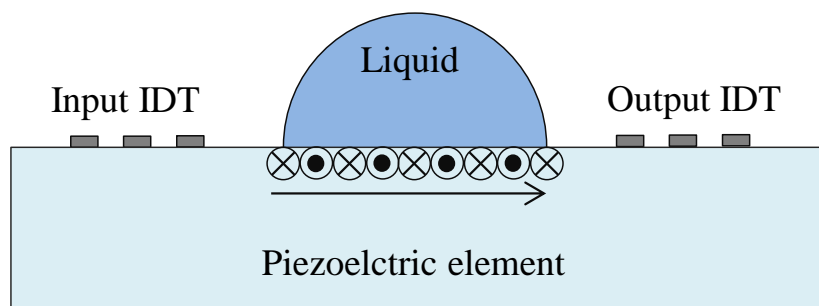


図 1.10 SH 波の液中での伝播の概略図

Fig.1.10 Schematic drawing of SH wave attenuation when arranges liquid reservoir on the propagation surface.

1.4 本研究の目的と構成

本研究の目的は、SAW モードの一つであるレイリー波を用い、QCM センサーよりも高周波(数百 MHz)であり高感度であること、数マイクロリットルと微量溶液で測定できることを目的としたバイオセンシング可能な液相系センサー装置を開発することである。前節で述べたように、この縦波放射を利用した周波数数十 MHz のセンサーが過去に提案されているが、液体の固定方法の課題があった。本研究室では、液体の固定方法を改良するため、伝播路に AI スリットを 2 本作製し、スリット内に溶液を保持し、ネットワークアナライザーによって電圧差である振幅を測定していた(図 1.11)。レイリー波の伝播路上に溶液の幅は AI スリットの幅によって固定できたが、図 1.12 に示すように溶液の高さが液滴の仕方や外部環境によって変わる課題があり、グローブボックス内で測定するなど対策を実施していた。しかし、図 1.13 の純水の繰り返し測定(5 回)を例に示したように、測定バラツキが発生していた。

そこで、液相試料の固定として、親水性と撥水性部分を設けたガラス製の溝ホルダーを用いて構造の問題を解決した^{(19),(20),(21)}。このデバイスでは、溝ホルダーと使用した圧電素子を密着させることなく液相試料のみをレイリー波の伝播路上に設置でき、150~200MHz の高周波で測定が可能になった。

また、溝ホルダーに閉じ込められた液相試料内を伝播するレイリー波の基礎理論を確立し、液体のどのような情報が検出できるかを溶液の物性が既知であるアルコールと NaCl 水溶液を用いて測定値と比較検証を行った。

開発した SAW センサー装置をバイオセンシングに応用することを想定しており、粘度標準液として使用されているグリセリン、タンパク質であるアデノシン三リン酸(ATP)水溶液や抗体濃度、牛乳内の抗生物質濃度、血液濃度を測定した結果について報告する。

第二章では、溝ホルダー型 SAW センサーの実験方法と開発の概要を述べている。使用した圧電基板である水晶材料の特性や SAW 基板の形状、IDT 電極の作製方法と形状による基本特性、ガラス製溝ホルダーの作製方法と撥水性と親水性を利用した溝流路構造、レイリー波の励振と受信を行うネットワークアナライザーなど装置全体について報告する。

第三章では、溝ホルダーに閉じ込められた液相試料内を伝播するレイリー波の挙動を音波の波束であるパルス波を SAW デバイスへ入力し、出力波形からその挙動について調査した結果について報告する。得られた結果からセンサー感

度式の導出を行い，アルコール水溶液等を用いて測定値と比較検証した結果について報告する。

第四章では，バイオセンシングへの応用としてタンパク質水溶液などを本装置で測定し，算出した感度式と比較検証を行った結果について報告する。

第五章では，総括と今後について述べる。

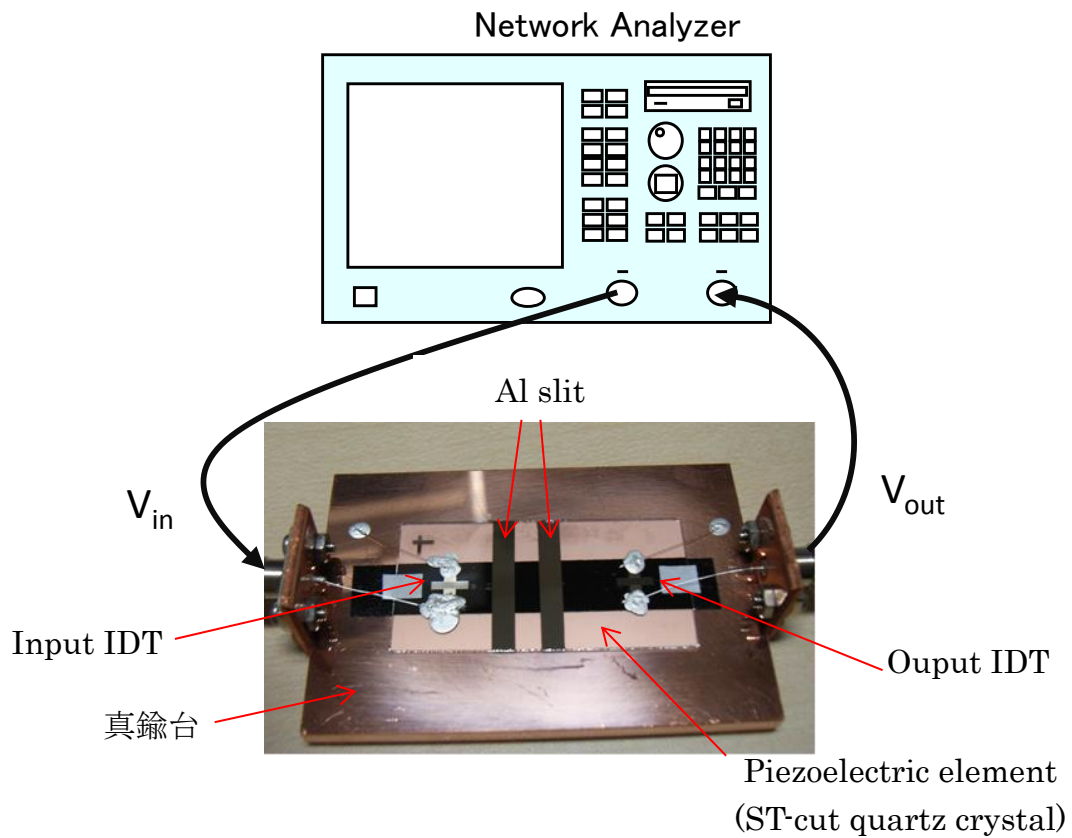


図 1.11 Al スリットタイプのレイリー型 SAW 溶液センサー写真

Fig.1.11 Photograph of Rayleigh SAW liquid sensor of Al slit type.

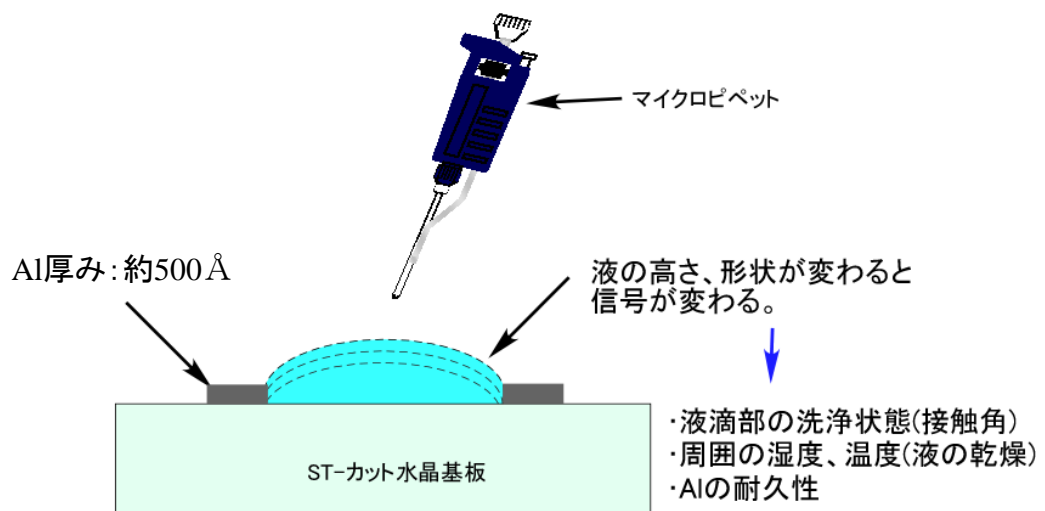


図 1.12 Al スリットに保持される試料溶液の概略図
Fig.1.12 Schematic drawing of a sample solution hold in the Al slit.

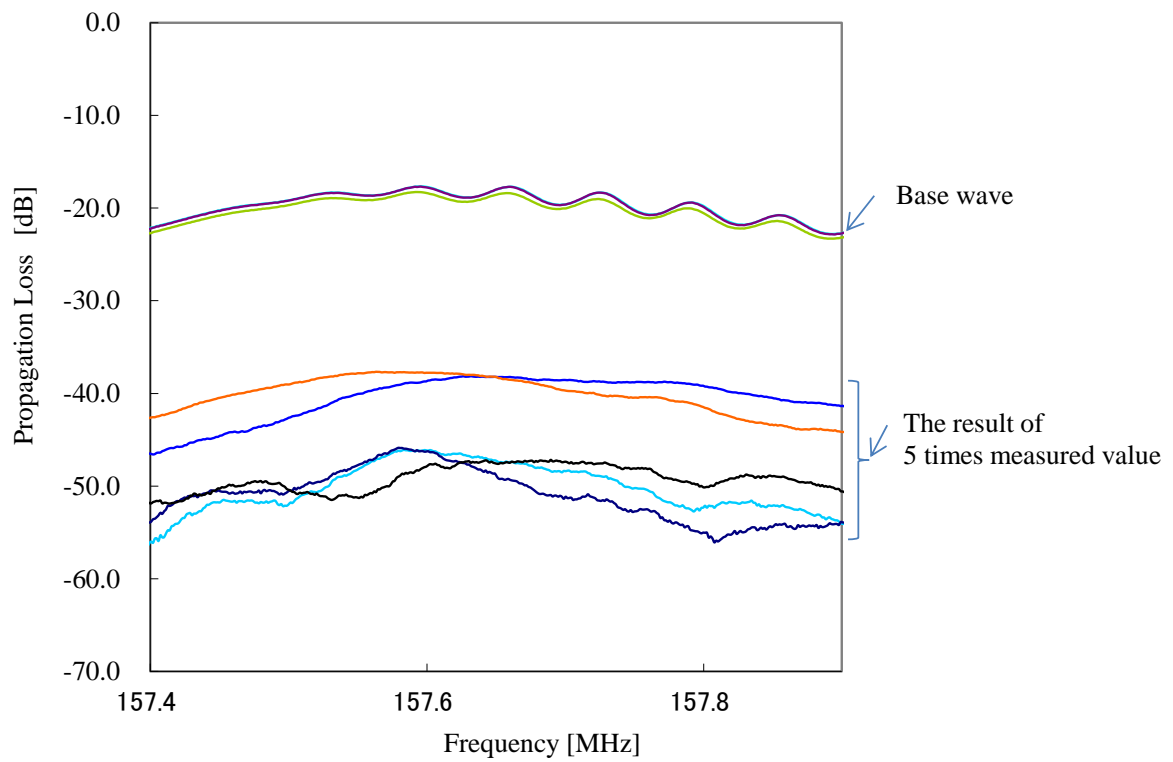


図 1.13 Al スリットタイプのレイリー波 SAW デバイスで測定した純水の繰り返し振幅測定結果

Fig.1.13 The result of repeat amplitude measurements of pure water was measured by the Al slit type of Rayleigh SAW device.

第二章 溝ホルダー型 SAW センサー装置の開発

2.1 まえがき

SAW モードの一つであるレイリー波を液相センサーとして応用するためには、測定する試料溶液を外部環境の影響を受けることなくレイリー波伝播路上に均一に固定しないと 1.4 項で示したように信号のバラツキが生じる。本研究では、この問題を解決した親水性と撥水性を利用し試料溶液の液漏れを防止した溝ホルダーの構造を提案した⁽²¹⁾。本章では、開発した SAW センサーの作製方法と測定装置について述べる。

2.2 溝ホルダー型 SAW センサーの装置概要

2.2.1 圧電材料

圧電材料として、単結晶、圧電セラミックス、圧電薄膜など種々の材料が存在し、また弾性波デバイスとして使用する際にも、体積波(バルク波)用と弾性表面波用に分類でき、それぞれに材料の切断方位(カット面)と弾性波動の進行方位(伝搬軸)や振動面により、さらに多くの基板に分けられる。携帯電話など移動体通信用に使用される SAW フィルターは、周波数帯は 100MHz~3GHz であり、電磁的エネルギーが力学的エネルギーに変換される効率を示す電気機械結合係数が大きい LiTaO₃ が一般的に使用される(表 2.1 参照)⁽²²⁾。水晶は LiTaO₃ に比べて電気機械結合係数は低いが、温度に対する周波数変化がほぼゼロである特徴を有する。本研究では、バイオセンサーに使用することを想定しており、温度変化に対する測定バラツキ影響を考慮して ST カット水晶を使用することにした⁽²³⁾。ST カット水晶と LiTaO₃ 基板を使用した場合の温度変化に対する電気信号のパラメータである波の伝達時間を示す位相変化をシミュレーションした結果を図 2.1 に示した。周波数は 157MHz、電極間距離は 20mm とした。ST カット水晶は温度変化 10°C の範囲ではほぼ位相に影響はないが、LiTaO₃ 基板では大きく位相が変化することがわかる。

使用した人工水晶は、図 2.2 に示すような外観となっており、ファインクリスタル株式会社から提供を受けた。図 2.3 に示すように ST カットとは、Z 軸を基準に反時計方向に 42° 45' 倒して切断した角度である。レイリー波を励振させるため、図 2.4 に示すように、水晶原石から ST カットした外形 3 インチウエハーの X 軸方向がレイリー波の進行方向になるように IDT 電極を配置した。入力 IDT 電極から基板内部方向に放射されたバルク波が、基板裏面で反射されて出力側 IDT で検出される場合があるため、裏面は粗さ Ra=0.5~0.6 μm の擦りガラス状に加工して反射を低減させた。

表 2.1 圧電材料の特性比較

Table.2.1 Comparison of the characteristic of piezoelectric material.

結晶名	カット/方向	伝搬速度 [m/s]	電気機械 結合係数 [%]	温度係数 [ppm/deg]	波の種類
水晶	STカット 42° 45' Y-X	3158	0.14	0	レイリー波
	-7.5° Y-X	3948	0.11	0	リーキー波
	36° Y-Z	5088	0.11	0	SH波
LiTaO ₃	X-112° Y	3287	0.64	-18	レイリー波
	36° Y-X	4160	7.6	-35	リーキー波
LiNbO ₃	128° Y-X	3992	5.5	-72	レイリー波
	Y-Z	3488	4.8	-94	レイリー波
	64° Y-X	4742	11.0	-80	リーキー波

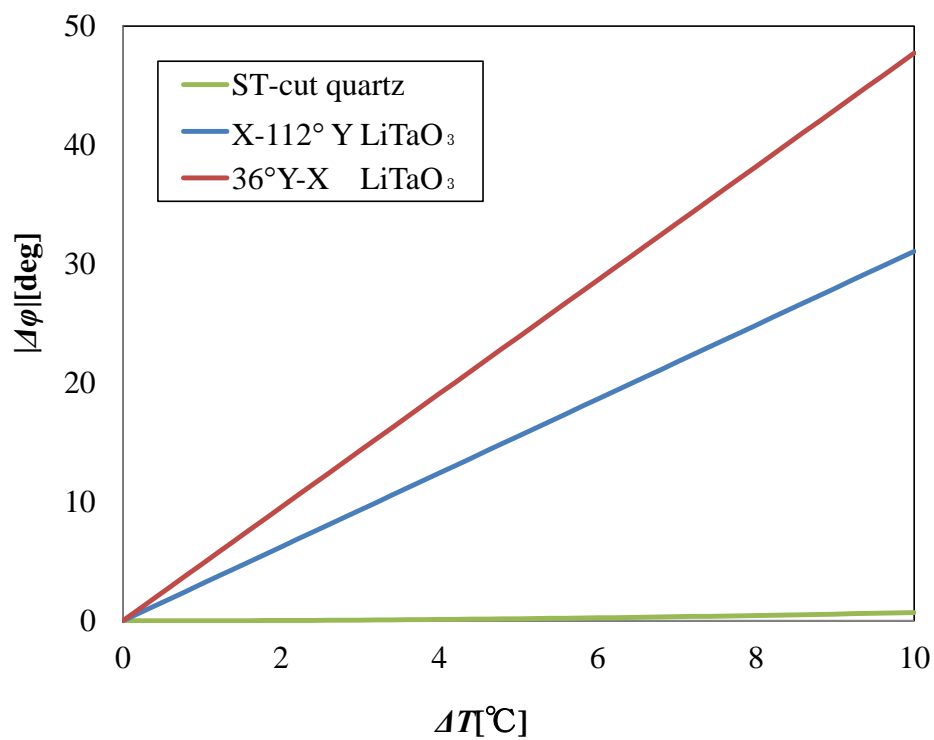


図 2.1 ST カット水晶と LiTaO₃ の温度変化に対する位相変化比較
 Fig.2.1 Comparison of the phase shift change to the temperature change of ST-cut quartz crystal and LiTaO₃ material.

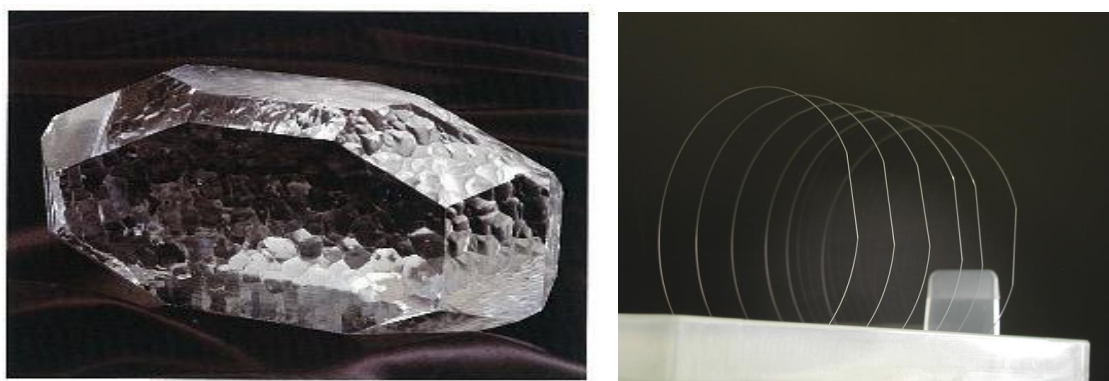


図 2.2 人工水晶と ST カットされた水晶ウエハーの外観写真
 Fig.2.2 Photograph of synthetic quartz crystal and the wafer.
 (Source: FINE CRYSTAL Co.,Ltd.)

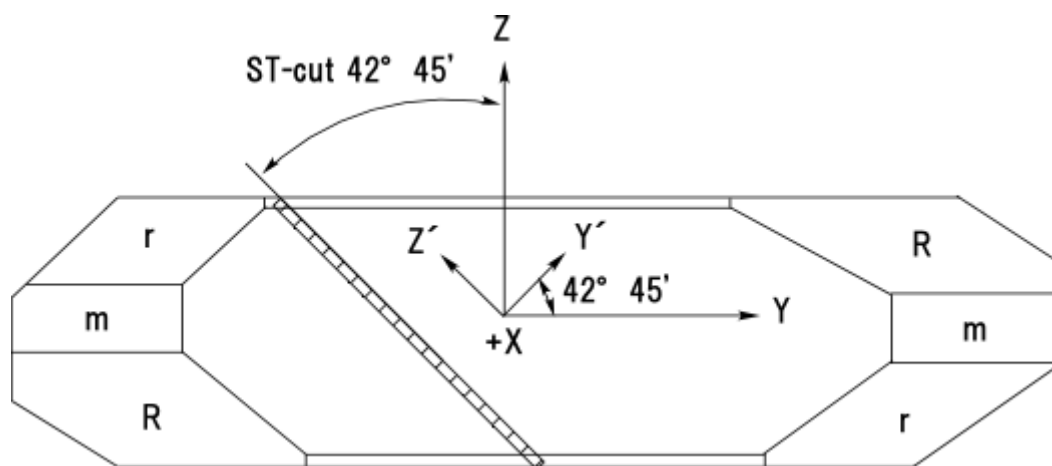


図 2.3 水晶 ST カット方向の概略図
 Fig.2.3 Schematic diagram of a cut direction of quartz crystal.

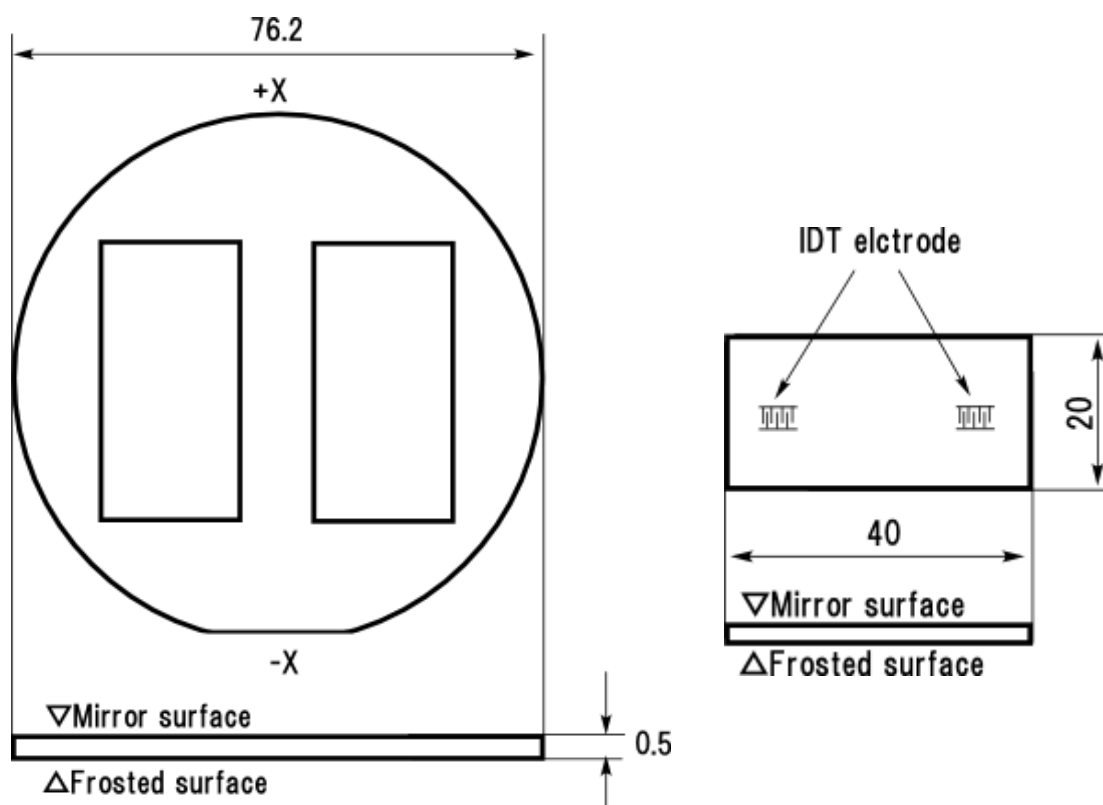


図 2.4 水晶ウェハーから取り出すレイリー波 SAW 基板概略図
 Fig.2.4 Schematic diagram of Rayleigh SAW substrate of crystal quartz.

2.2.2 IDT 電極構造

IDT 電極の形状や電極幅によって、得られる SAW の中心周波数や周波数帯域幅などが決まる。シングル電極は構造的に最も単純で、電極線幅を $P_1/4$ と広くとれるため、形成しやすく、一般的に用いられている。ただし、弾性的に見たときにグレーティング周期は $P=P_1/2$ であるため、SAW が強く励振される周波数帯域では多重反射による影響がある。ダブル電極は電極線幅が $P_1/8$ と狭く、微細加工には不利であるが、弾性的に見た場合、グレーティング周期が $P=P_1/4$ であるため、多重反射が生じない特徴がある⁽²⁴⁾。図 2.5 に IDT のシングル電極とダブル電極構造の概略図を示す。IDT 電極が励振する SAW の中心周波数 f は、IDT 電極幅の周期間隔 P_1 で決まり、

$$f = \frac{v_R}{P_1} \dots\dots\dots (2.1)$$

である⁽²⁵⁾。ここでレイリー波伝播速度 v_R は 3158m/s ⁽¹⁴⁾ であるので、作製したシングル電極($P_1=20\mu\text{m}$)では 157MHz 、ダブル電極($P_1=16\mu\text{m}$)では 197MHz が中心周波数となる。

IDT 電極の作製について、半導体製造プロセスで用いられる一般的なフォトリソグラフィ技術を用いて IDT 電極を作製した。楕形電極の作製方法手順を図 2.6 および説明を下記に示す。

- ① 図 2.4 で示した外形 $20\times 40\text{mm}$ の水晶基板を準備する。
- ② 水晶基板に Al 蒸着する。Al 蒸着は ULVAC 社製真空蒸着装置 EBH-6 を用い、膜厚を約 700\AA とした。
- ③ Al 蒸着した面にフォトレジストをスピンコートする。フォトレジストは東京応化工業社製の OFPR800(粘度 15cP)を用いた。
- ④ フォトマスクをフォトレジスト面に密着させる。フォトマスクは、東洋精密工業製を用いた。
- ⑤ フォトマスクの上からフォトレジストに紫外線照射する。露光装置は 365nm (i 線)をピーク波長に持つ超高压水銀ランプを用いた。
- ⑥ 感光されたレジスト部を現像液にて除去する。現像液は、東京応化工業製 NMD-3 を用いた。
- ⑦ レジスト部をマスクとして Al をエッチングする。Al のエッチング液は、リン酸：硝酸：酢酸：脱イオン水を $4:1:1:2$ の割合で混合した液を用いた。
- ⑧ レジストを完全除去する。東京応化工業製の剥離液を用いた。

図 2.7 に作製したダブル IDT 電極の顕微鏡観察写真を示す。端部まで均一にパ

ターンが形成されていることを確認した。

図 2.8 にシングル IDT 電極パターンを水晶基板上に作製し、ネットワークアナライザーで測定した入出力電圧比である振幅特性を示す。中心周波数 157.6～158MHz 付近に多重反射の影響が見られる。また、ダブル IDT 電極パターンで作製した振幅特性を図 2.9 に示す。シングル電極で見られた多重反射の影響がないことを確認した。

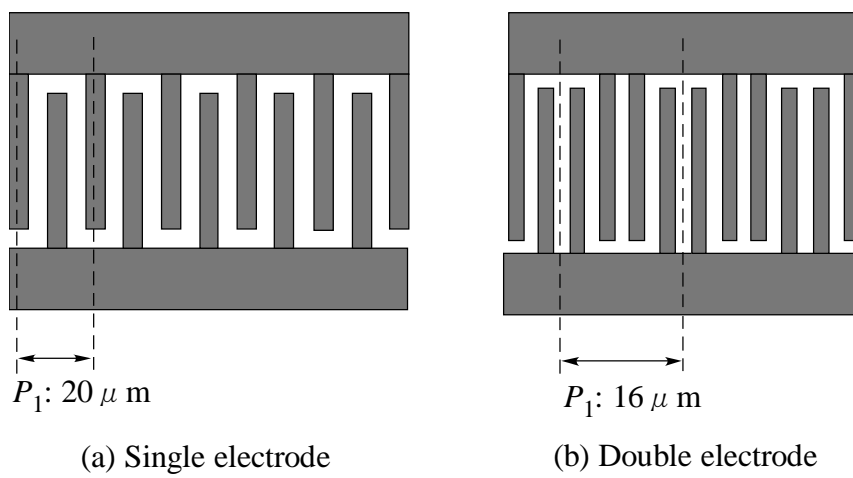


図 2.5 IDT のシングル電極とダブル電極構造の概略図

Fig.2.5 Schematic drawing of aluminum IDTs (a) single electrode and (b) double electrode.

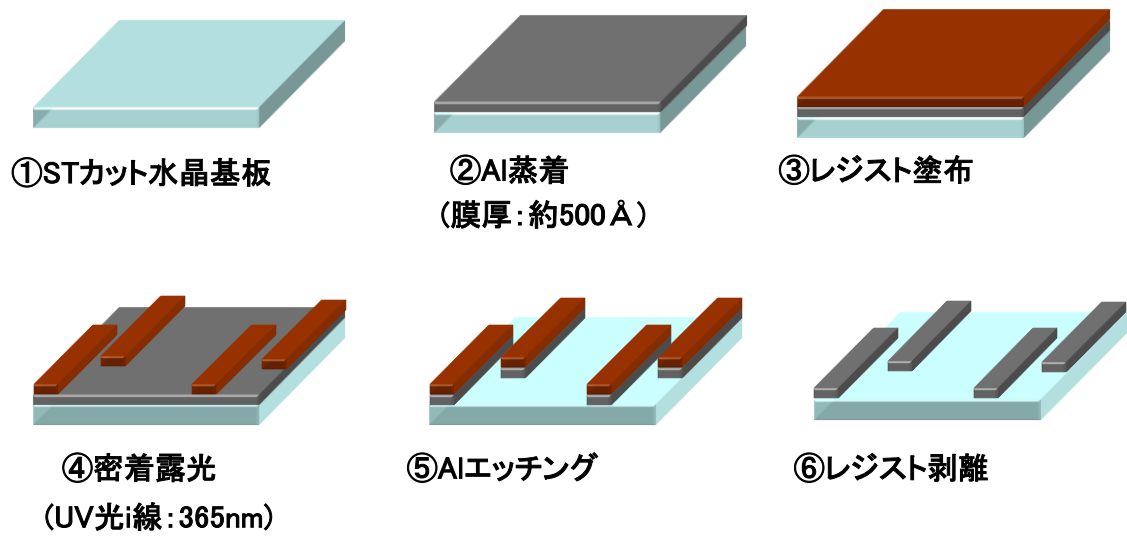


図 2.6 IDT 電極の作製方法
 Fig.2.6 Manufacturing method of the IDT electrodes.

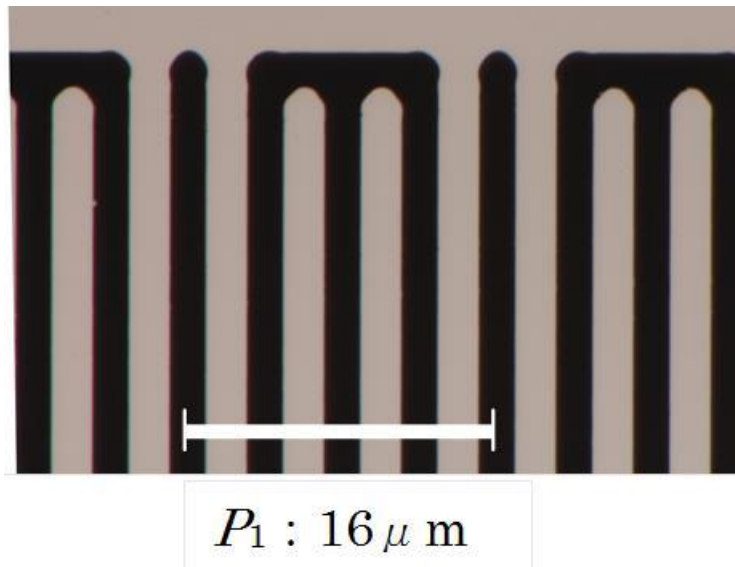


図 2.7 IDT ダブル電極の拡大顕微鏡観察写真
(灰色部 : Al 電極, 黒色部 : 水晶)

Fig.2.7 Photograph of the double electrode pattern.
(Gray part : Al electrode, Black part : Quartz crystal)

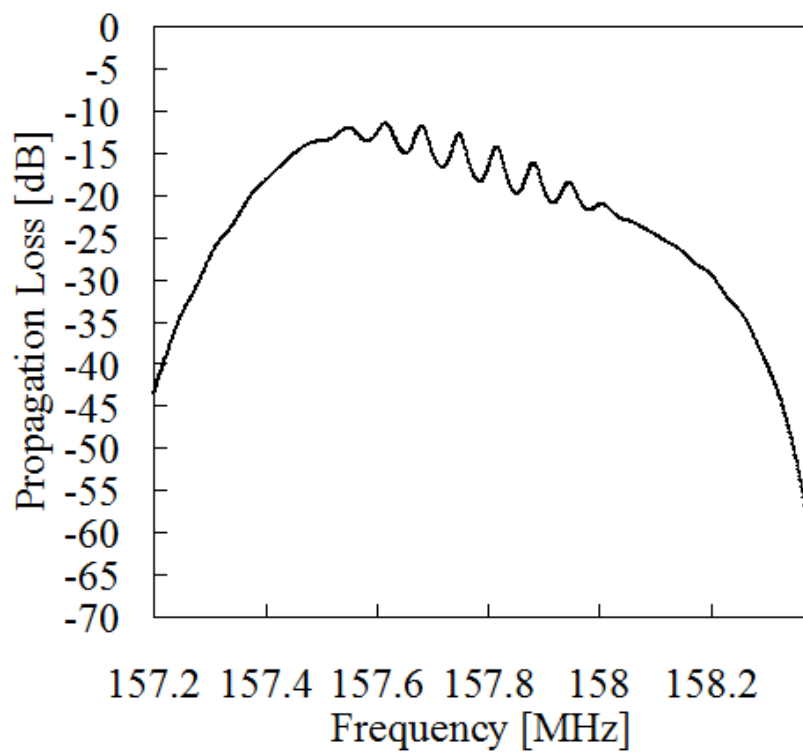


図 2.8 IDT シングル電極の電気特性

Fig.2.8 Electrical properties of the single IDT electrode.

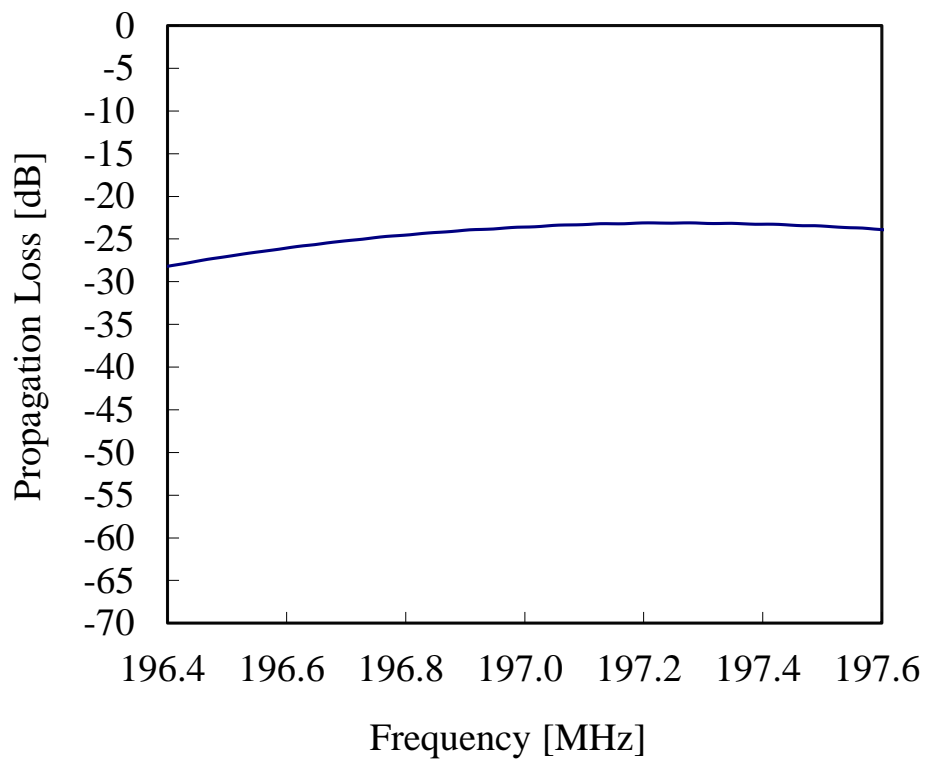


図 2.9 IDT ダブル電極の電気特性

Fig.2.9 Electrical properties of the double IDT electrode.

2.2.3 溶液導入のための溝ホルダーの構造

本研究では、マイクロ流路の溝を形成したガラス製ホルダー(以後、溝ホルダー)をレイリー波伝播路上に配置し、その中に試料溶液を導入する手法を提案し、その特性を評価した⁽²¹⁾。図 2.10 に顕微鏡で観察した幅が 0.4mm の溝ホルダーの断面形状写真を示す。溝加工は、ダイヤモンド砥石が高速回転するマイクロジェネレーター(株不二越社製 SMG20P-43K)を用いて行った。溝ホルダーは SAW デバイス上に完全に密着させず僅かに隙間をあけて設置させることで、伝播するレイリー波が試料溶液以外で散乱される影響を抑えることを試みた。試料溶液が隙間から漏れだすのを防ぐため、溝内壁は親水性、その周辺は撥水性に表面処理することで、固液界面での表面張力を利用した溝流路構造とした(図 2.11)。これにより試料溶液が流路から外部に漏れず、レイリー波伝播路上に試料溶液のみが接するように安定に導入することが可能となり、測定精度が大幅に向上した。また、試料溶液が溝内に閉じ込められ、ガラス基板に守られる構造になるため、周囲の湿度や風の影響を受けにくく、安定した測定を行うことができる。

図 2.12(a)は撥水処理前の水晶基板表面に純水を液滴したときの写真であり、接触角は約 18° とほぼ親水性である。これに対し、シリコーン系撥水コート剤で表面処理した後(図 2.12(b))では接触角が約 110° と高い撥水性を示す。これにより、弱い圧力で流路に導入された溶液の幅は、ホルダーの溝幅とほぼ同じであると考えられる。

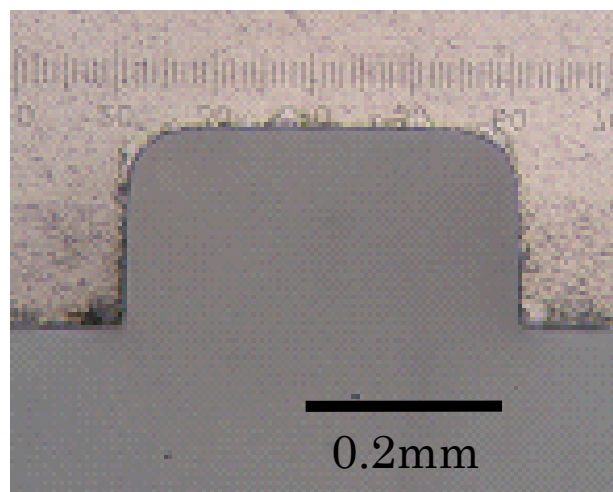
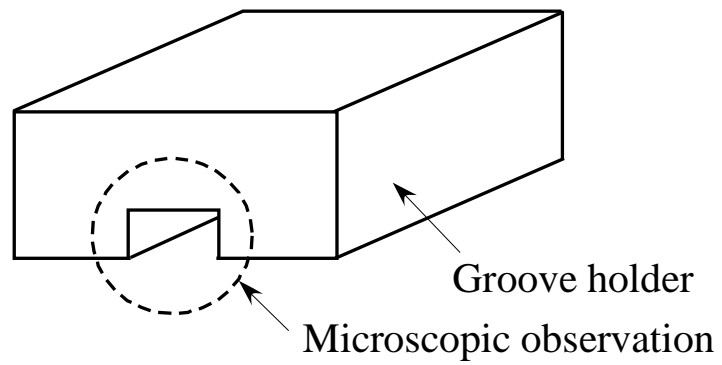


図 2.10 溝ホルダーの断面形状写真
Fig.2.10 Photograph of the cross-sectional shape of the groove.

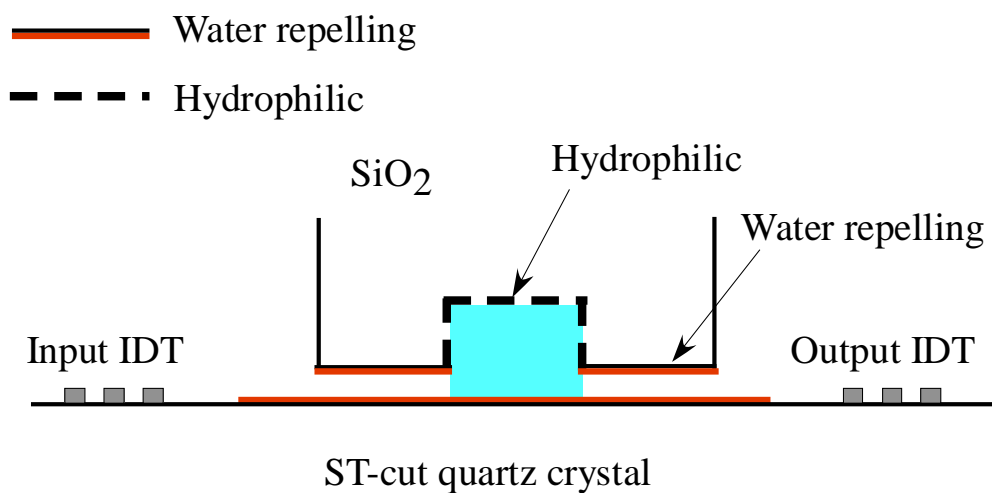


図 2.11 溝ホルダー構造の概略図

Fig.2.11 Schematic drawing of the groove channel structure.



図 2.12(a) 親水面(水晶面)の純水の接触角写真
Fig.2.12(a) Photograph of contact angle of hydrophilic surface.
(Pure water 1 μ L).

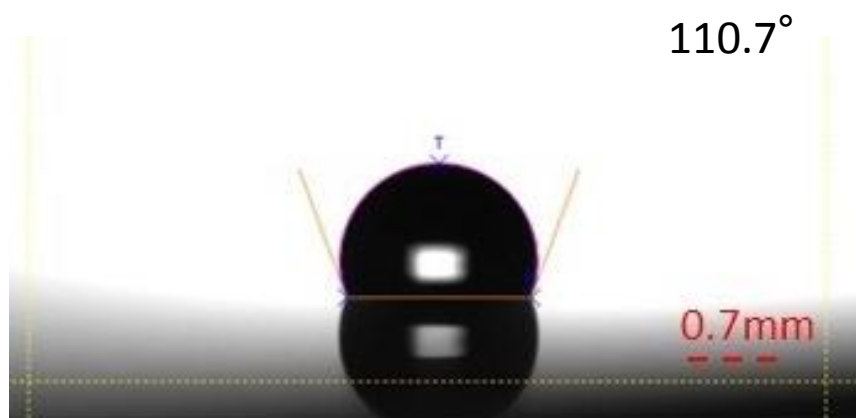


図 2.12(b) 撥水面の純水の接触角写真
Fig.2.12(b) Photograph of contact angle of water repelling surface.
(Pure water 1 μ L).

2.2.4 測定装置

高周波の測定では電圧や電流を直接計測することは非常に困難である。電圧計や電流計を回路に接続することが測定の正確さを損なうことになる。そこで、スキャタリングパラメータ(Sパラメータ)が開発され、今日の高周波測定に使用されている。Sパラメータはベクトル量であり、ネットワークアナライザーで信号の振幅および位相をリアルタイム計測することができる。本研究では、図 2.13 に示すアジレントテクノロジー社製の型式 E5061A のネットワークアナライザーを用いた。高周波の励振と受信を一台で行うことができる特徴があり、図 1.5 に示したように SAW デバイスの入力と出力 IDT 電極にそれぞれ接続し、2.2.3 項で示した溝ホルダーを SAW 伝播路に設置して測定した。図 2.14 に作製したレイリー型 SAW 溝流路デバイス装置の概略図を示す。

作製したレイリー型 SAW 溝流路デバイスの特性を確認するため、ネットワークアナライザーで測定した振幅の測定結果を図 2.15 に示す。試料溶液は純水を用いた。図 1.8 に示すように溝ホルダーを用いず、SAW 伝播路に液滴しただけの③溝ホルダーなしの基本特性では、①基本波に対して振幅が 50dB 以上と大幅に減衰しており、出力側へは信号がほとんど伝わらないことがわかる。一方、今回作製した②溝ホルダーを用いて測定すると、約 10dB 程度の減衰に抑えることができた。また、溝ホルダーを用い、純水を 5 回繰り返し測定した振幅の測定結果を図 2.16 に示す。振幅のバラツキは全く見られず、図 1.11 で示した溝ホルダーを使用していない AI スリットタイプと比較しても振幅のバラツキがなく安定して測定できることがわかった。

次に、溶液の物性の違いによる位相の周波数依存性を測定するため、溝ホルダーに純水とグリセリン水溶液試料を注入して比較した。図 2.17 に示すように、試料溶液の違いにより位相シフトが明瞭に観測できることがわかった。これらの結果より、本研究で提案する溝ホルダーを用いた SAW デバイスにより、試料溶液の物性を位相変化として測定できることがわかった。



図 2.13 測定に用いたネットワークアナライザーの外観写真
Fig.2.13 Photograph of network analyzer which is used for the measurement.

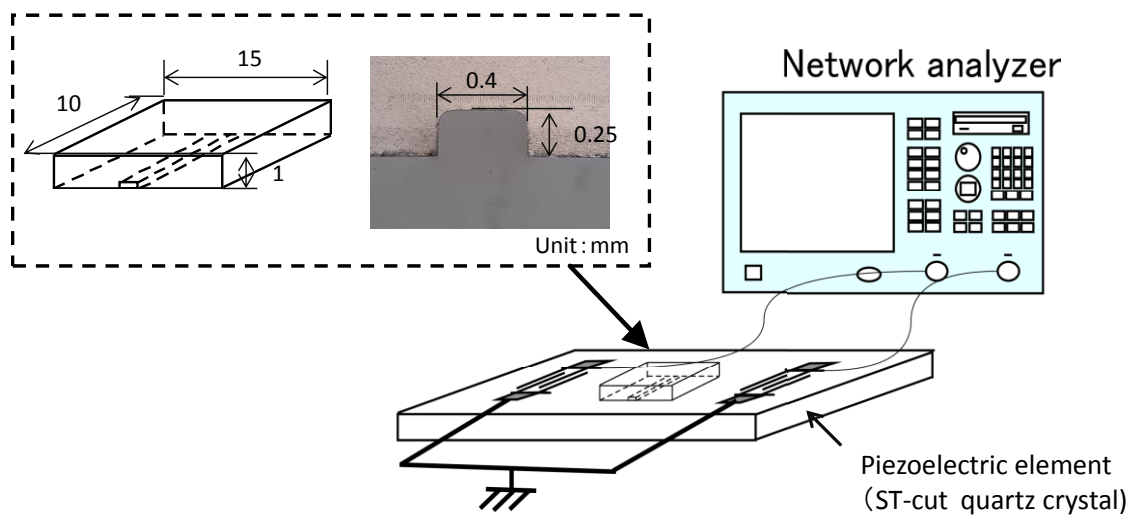


図 2.14 溝ホルダーを設置したレイリー型 SAW 溝流路デバイス装置の概略図
 Fig.2.14 Schematic drawing of Rayleigh SAW type groove channel device.

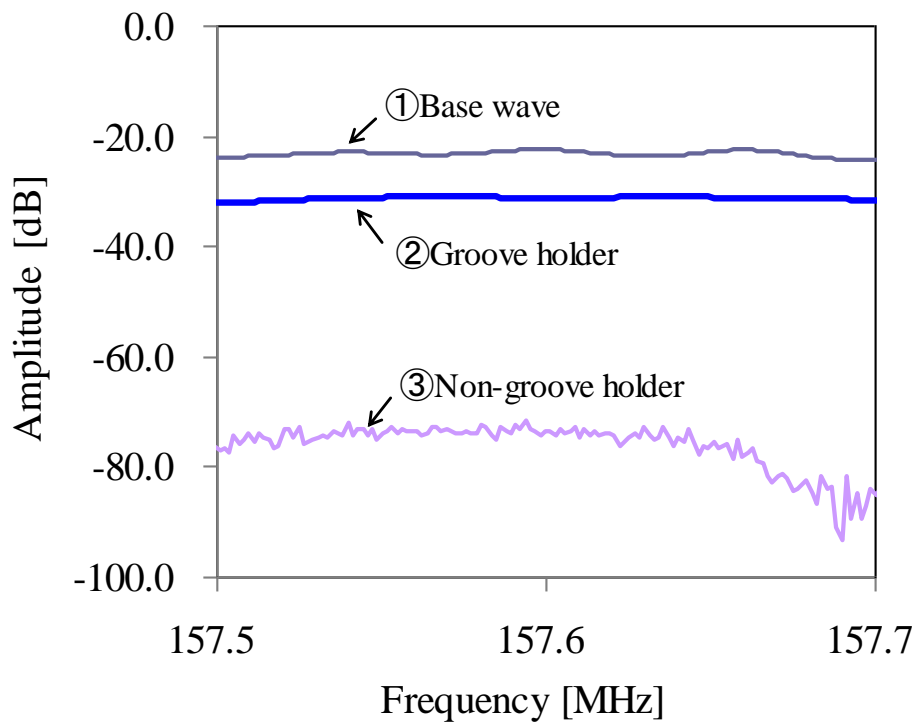


図 2.15 溝ホルダーの使用有無でのレイリー波の振幅比較

(① 基本波：溝ホルダー内に溶液がない場合の特性，②溝ホルダー：溝ホルダー内に純水がある場合の特性，③溝ホルダーなし：図 1.5 に示したように SAW 伝播路上に純水を液滴形成した場合の特性)

Fig.2.15 Comparison of the amplitude of the Rayleigh wave in the groove substrate use or non-use(①Base wave: Characteristic without sample solution into the groove holder, ②Groove holder: Characteristic with pure water into the groove holder(the width and depth is 0.4 and 0.2mm), ③Non-groove holder: Characteristic arranged the form of droplets of pure water to the SAW propagation path as shown in Fig.1.5)

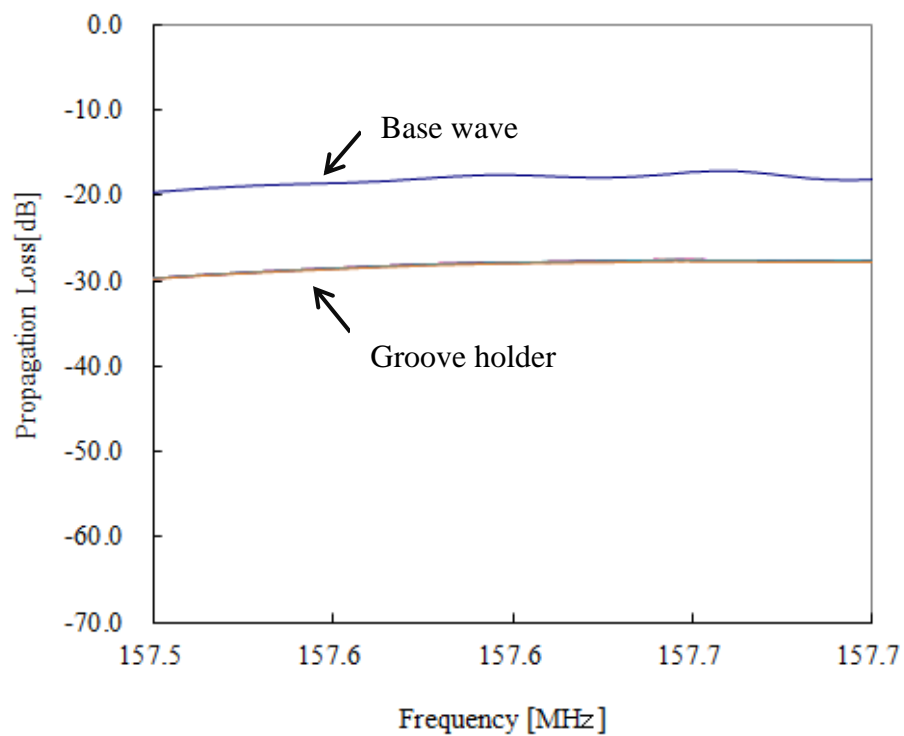


図 2.16 溝ホルダーを使用したときの純水繰り返し(5回)振幅測定結果
 Fig.2.16 Comparison 5 times measurement of the amplitude of the Rayleigh wave in case of using the groove holder.

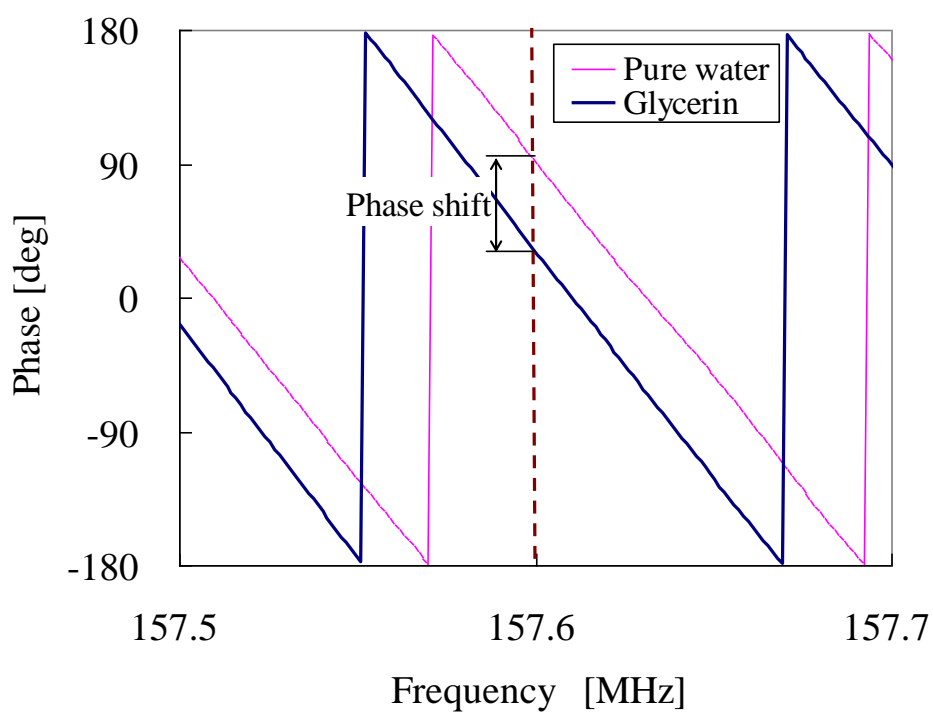


図 2.17 溝ホルダーを使用したときの純水とグリセリン水溶液の位相差比較
 Fig.2.17 Comparison of the phase difference of glycerin and pure water.

2.3 あとがき

本章では，図 2.14 に示すレイリーSAW 溝流路デバイス装置を提案した。圧電材料には温度変化に対する周波数変化が小さい ST カット水晶を用いた。高周波のレイリー波を液相系センサーとして使用する上で課題だった液相試料の固定について，撥水性と親水性の表面張力を利用したガラス製の溝流路構造を採用し，溝内に試料溶液を閉じ込めて溶液の形状を外部環境に影響することなく固定することで，溝流路体積である微量溶液 1 μ L でバラツキなく測定できることを明らかにした。

第三章 溝ホルダー型 SAW センサーの電気特性

3.1 まえがき

前章図 2.17 にて純水とグリセリン水溶液で位相シフトがあることを示した。

本章では、溝ホルダー内に保持された溶液の特性によって、レイリー波の伝播速度を表す位相変化が起きる現象を解析する。解析手法として音波の波束であるパルス波を断続的に入射し、その伝播時間と距離から音速を求めるパルス法を用いた。

まず、作製した SAW 基板のレイリー波の励振を調べるため、SAW デバイスのパルス波伝播速度を測定した。入出力 IDT 電極間距離とレイリー波速度から求めた理論値と比較検証した。

次に、溝流路内に保持された試料溶液内でのレイリー波の挙動を調べるため、試料溶液として純水を用い、溝内に純水を入れる前後でのパルス波伝播速度を測定した。既に報告されている数十 MHz 帯でのレイリー波の縦波放射を利用した溶液中の音速によって変化する縦波放射モデル⁽¹⁶⁾と我々が開発した装置での測定と比較検証を行い、高周波 197MHz デバイスを用いた場合の縦波放射モデルについて述べる。

3.2 パルス波を用いた伝播波形の観察

図 2.13 に示したネットワークアナライザでは、パルス波を励振できないため、図 3.1 に示すようにパルス発生器(Agilent Technologies 社製 81160A)で励振した。また、受信にはオシロスコープ(Agilent Technologies 社製 MSO-X3054A)を用いた。入力 IDT 電極へ入力したパルス電気信号の各パラメータは、入力電圧を 5V、パルス幅を $0.5\mu\text{s}$ 、繰り返しパルス波の発生間隔 $20\mu\text{s}$ とした。データのサンプリングは $0.2\mu\text{s}$ 毎に設定した。

はじめに、作製したシングル電極とダブル電極の SAW デバイス特性を評価するため、溝開口部には試料溶液を入れずに比較を行った。作製したシングル電極とダブル電極でのパルス波特性を図 3.2 と図 3.3 に示す。シングル電極は、多重反射の影響を受けている特性となっている。一方、ダブル電極ではシングル電極の特性と比較するとノイズが少ない特性である。本研究では、数マイクロ秒の伝播時間変化を検知することが必要であり、この結果からダブル電極で作製した周波数 197MHz の SAW デバイスを用い、溝開口部内に保持された溶液内でのレイリー波の時間変化を評価することにした。

次に、作製した SAW デバイスが正しくレイリー波を励振しているかを調査した。SAW デバイスへの入力パルス波の波束信号と SAW デバイスの入力側 IDT 電極に入力して得た電気信号を図 3.4 に示す。入力したパルス波を基準としたとき、レイリー波に変換され出力側 IDT で受信されるまでの時間遅れは $6.7\mu\text{s}$ だった。入出力 IDT 電極の中心間距離は 21.5mm としており、レイリー波の速度は約 3200m/s ($\div 21.5\text{mm}/6.7\mu\text{s}$)と求められ、水晶 ST カットのレイリー波速度の 3158m/s にほぼ一致する結果を得た。水晶 ST カットの固体中を伝わるバルク波の縦波速度 7030m/s 、横波速度 3390m/s ⁽²⁶⁾とは測定値と差があるため、作製した SAW デバイスは、バルク波ではなく、レイリー波を励振し、電気信号を正しく測定できていることがわかった。この結果により、試料溶液の固定のために用いた撥水膜および裏面反射などによるバルク波のレイリー波速度への影響については少ないと考えられる。

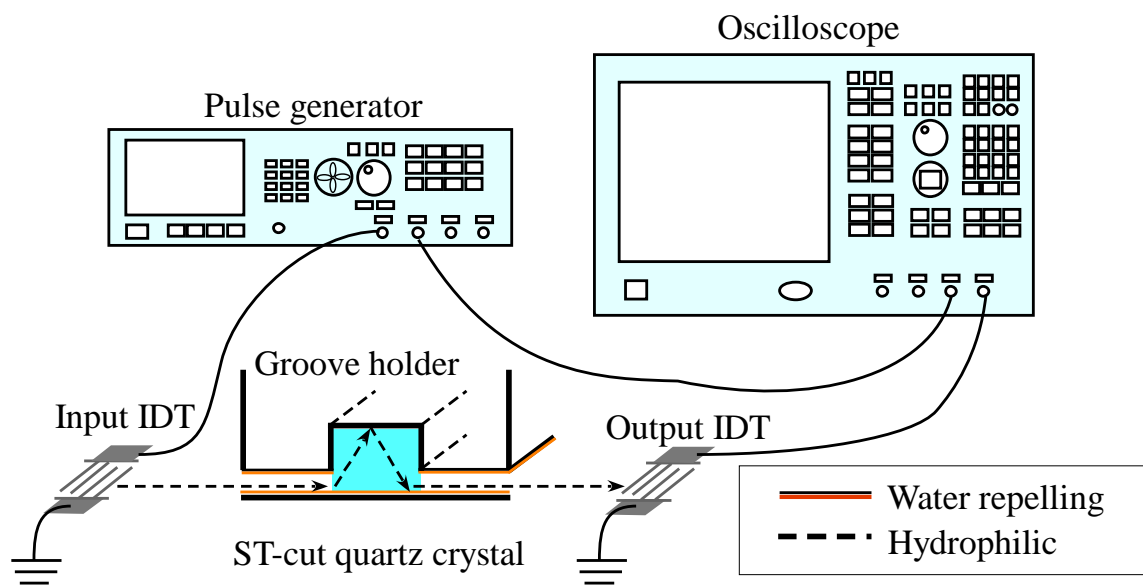


図 3.1 パルス発生器とオシロスコープを使用した測定システムの概略図

Fig.3.1 Schematic drawing of the measurement system using pulse generator and oscilloscope.

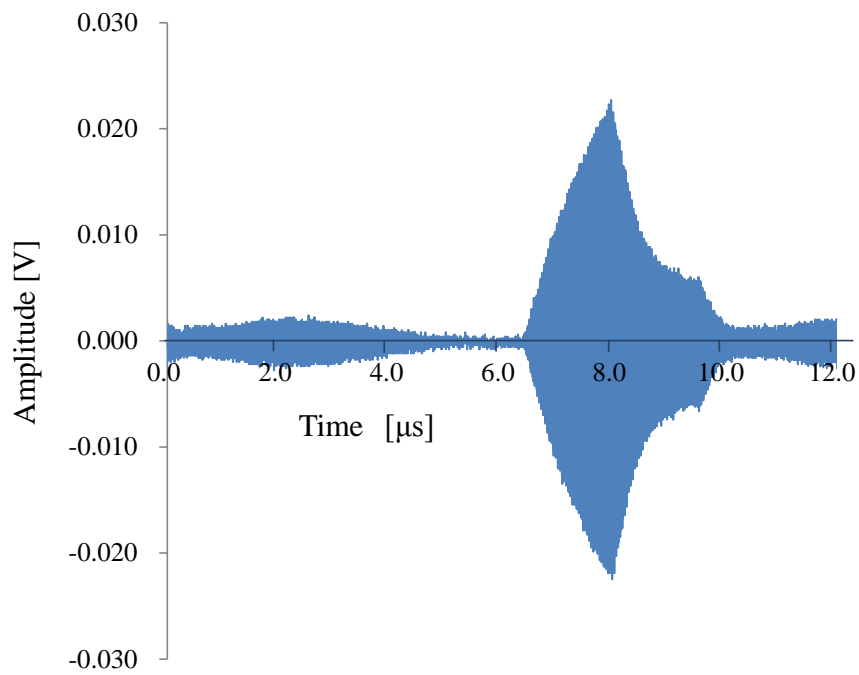


図 3.2 シングル電極 IDT の SAW デバイスの電気特性(周波数 : 157MHz)
Fig.3.2 Electrical characteristics of SAW device of single electrode IDT(Frequency:157MHz).

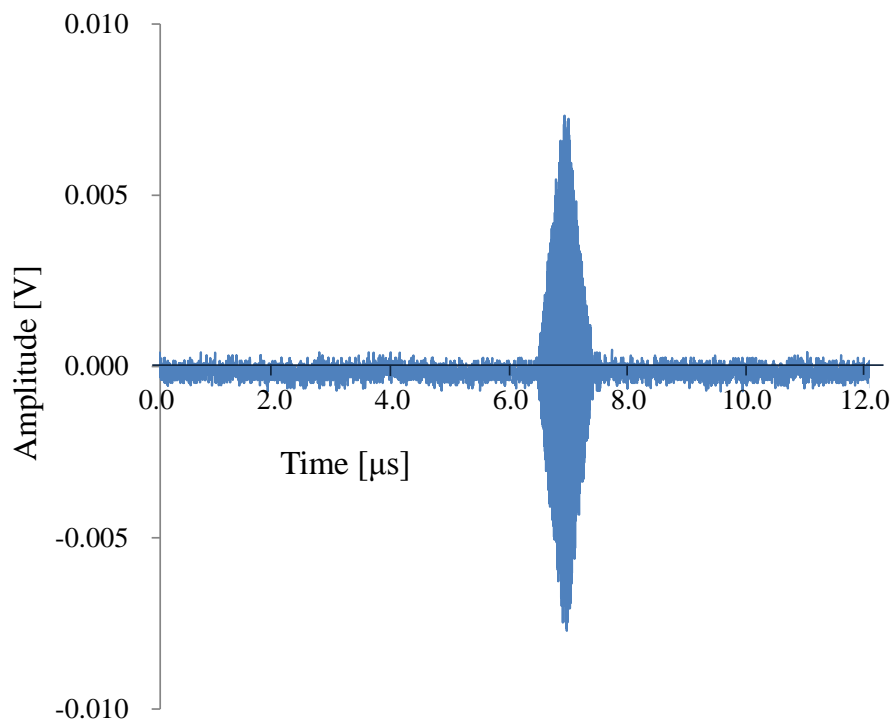


図 3.3 ダブル電極 IDT の SAW デバイスの電気特性(周波数 : 197MHz)

Fig.3.3 Electrical characteristics SAW device of double electrode IDT
(Frequency:197MHz).

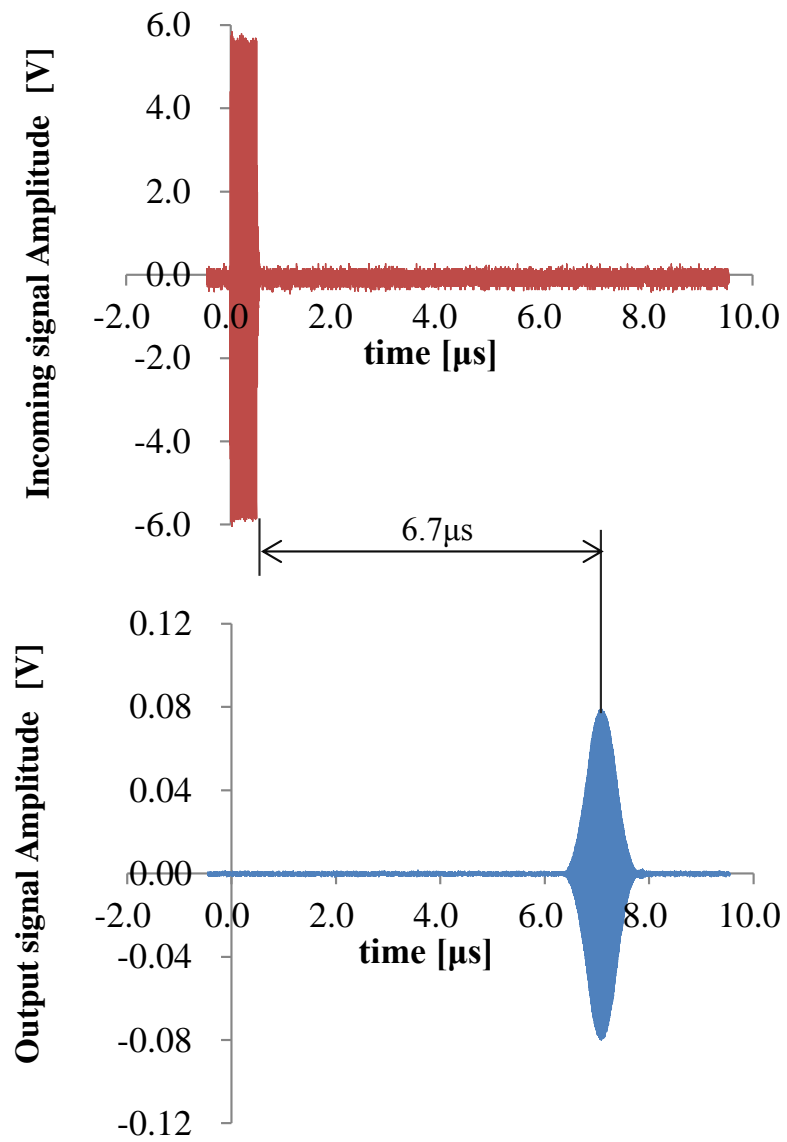


図 3.4 SAW デバイスへの入力と出力パルス波信号の比較

Fig.3.4 Comparison of the incoming and output pulse wave signal to SAW device.

3.3 レイリー波の溶液中への縦波放射による伝播モデル

レイリー波は伝播路上に液体があると液体中に縦波を放射して減衰する。図 3.5 にレイリー波の伝播路上に溝ホルダーによるマイクロ流路がある場合の縦波放射モデル図を示す。

まず点 A でのレイリー波の挙動について説明する。レイリー波が液相中に縦波を放射する角度 θ はレイリー角と呼ばれ、次式で表される^{(16),(27)}。

$$\theta = \sin^{-1} \left(\frac{v_t}{v_R} \right) \dots\dots\dots (3.1)$$

ここで v_t と v_R はそれぞれ液体中の音速および SAW の伝播速度である。純水中の音速 v_t は約 1497.5m/s(25°Cの場合)、レイリー波の速度は 3158m/s であることから、式(3.1)にそれぞれ代入すると、

$$\theta = \sin^{-1} \left(\frac{1497.5}{3158} \right) = 28.3(\text{degree}) \dots\dots\dots (3.2)$$

で縦波が放射される。

異なる試料溶液中での伝播を比較する場合、溶液 A と B での位相シフト $\Delta\phi(\text{degree})$ は、それぞれの溝開口内を伝播する時間 t_A と t_B の差より次式で表される。

$$\Delta\phi = 360 \times \frac{(t_A - t_B)}{T} \dots\dots\dots (3.3)$$

ここで f は周波数(Hz)、 T は使用周波数での波の周期(s)である。図 3.5 より、試料溶液中の音速とレイリー波の伝播速度から、溝内を伝わる縦波の時間 t は次式で表される。

$$t = \frac{L'}{v_t} + \frac{L_{IS}}{v_R} \dots\dots\dots (3.4)$$

ここで L' はレイリー波が点 A で放射された縦波が点 B の溝上壁で反射して SAW デバイス表面の点 C に戻るまでの距離、 L_{IS} は点 C で再びレイリー波に変換されて溝内を進む距離である。溝幅 L 、溝高さ H 、縦波放射角 θ を用いると、

$$L' = \frac{2H}{\cos\theta} \dots\dots\dots (3.5)$$

$$L_{IS} = L - 2H \tan \theta \dots\dots\dots (3.6)$$

と表される。試料溶液 A と B 中を進む音速を v_A と v_B とすると、それぞれの溶液中を伝播する縦波の時間 t_A と t_B は、式(3.7)と式(3.8)で表される。

$$t_A = \frac{2H}{v_A \cos \theta_A} + \frac{L - 2H \tan \theta_A}{v_R} \dots\dots\dots (3.7)$$

$$t_B = \frac{2H}{v_B \cos \theta_B} + \frac{L - 2H \tan \theta_B}{v_R} \dots\dots\dots (3.8)$$

θ_A と θ_B はそれぞれの溶液中での縦波放射角であり、式(3.9)と式(3.10)で表される。

$$\theta_A = \sin^{-1} \left(\frac{v_A}{v_R} \right) \dots\dots\dots (3.9)$$

$$\theta_B = \sin^{-1} \left(\frac{v_B}{v_R} \right) \dots\dots\dots (3.10)$$

式(3.3)に式(3.7), 式(3.8)式および式(3.9), 式(3.10)を代入すると位相シフト $\Delta\phi$ は式(3.11)で表される。

$$\Delta\phi = \frac{720fH}{v_R} \left(\frac{\sqrt{v_R^2 - v_A^2}}{v_A} - \frac{\sqrt{v_R^2 - v_B^2}}{v_B} \right) \dots\dots\dots (3.11)$$

このように、位相シフト $\Delta\phi$ は、IDT 電極幅に依存する SAW の周波数と使用した溝ホルダーの溝高さに比例することがわかる。

$$\phi(v) = - \frac{720fH}{v_R} \frac{\sqrt{v_R^2 - v^2}}{v} \dots\dots\dots (3.12)$$

$\phi(v)$ を式(3.12)と定義すると、

$$\Delta\phi = \phi(v_B) - \phi(v_A) \dots\dots\dots (3.13)$$

とおける。 $v_B = v_A + \Delta v$ とおくと、

$$\Delta\phi = \phi(v_A + \Delta v) - \phi(v_A) \dots\dots\dots (3.14)$$

となる。 v_A を基準溶液の純水の音速、 v_B を測定したい試料溶液の音速とすると、

$$|\Delta v| \ll v_A, v_R, \sqrt{v_R^2 - v_A^2} \dots\dots\dots (3.15)$$

と考えられる。このとき式(3.14)を Δv で展開することを考える。

$$\begin{aligned}
\Delta\phi &= \phi(v_A + \Delta v) - \phi(v_A) \\
&= \frac{720fH}{v_R} \left[\frac{\sqrt{v_R^2 - v_A^2}}{v_A} - \frac{\sqrt{v_R^2 - (v_A + \Delta v)^2}}{v_A + \Delta v} \right] \\
&= \frac{720fH}{v_R} \frac{\sqrt{v_R^2 - v_A^2}}{v_A} \left[1 - \frac{v_A}{v_A + \Delta v} \sqrt{\frac{v_R^2 - (v_A + \Delta v)^2}{v_R^2 - v_A^2}} \right] \\
&= \frac{720fH}{v_R} \frac{\sqrt{v_R^2 - v_A^2}}{v_A} \left[1 - \left(1 + \frac{\Delta v}{v_A}\right)^{-1} \sqrt{\frac{v_R^2 - v_A^2 - 2v_A\Delta v - \Delta v^2}{v_R^2 - v_A^2}} \right]
\end{aligned} \tag{3.16}$$

ここで二次の微小量である Δv^2 を無視すると,

$$\begin{aligned}
\Delta\phi &= \frac{720fH}{v_R} \frac{\sqrt{v_R^2 - v_A^2}}{v_A} \left[1 - \left(1 + \frac{\Delta v}{v_A}\right)^{-1} \sqrt{\frac{v_R^2 - v_A^2 - 2v_A\Delta v}{v_R^2 - v_A^2}} \right] \\
&= \frac{720fH}{v_R} \frac{\sqrt{v_R^2 - v_A^2}}{v_A} \left[1 - \left(1 + \frac{\Delta v}{v_A}\right)^{-1} \left(1 - \frac{2v_A}{v_R^2 - v_A^2} \Delta v\right)^{\frac{1}{2}} \right] \\
&= \frac{720fH}{v_R} \frac{\sqrt{v_R^2 - v_A^2}}{v_A} \left[1 - \left(1 + \frac{\Delta v}{v}\right)^{-1} \left(1 - \frac{2v_A}{\sqrt{v_R^2 - v_A^2}} \frac{\Delta v}{\sqrt{v_R^2 - v_A^2}}\right)^{\frac{1}{2}} \right]
\end{aligned} \tag{3.17}$$

ここで $|\Delta v| \ll v_A, v_R, \sqrt{v_R^2 - v_A^2}$ なので,

$$\left| \frac{\Delta v}{v} \right| \ll 1, \quad \left| \frac{\Delta v}{\sqrt{v_R^2 - v_A^2}} \right| \ll 1$$

である。 $|x| \ll 1$ のとき $(1+x)^n \sim 1 + nx$ の近似を使うと,

$$\begin{aligned}
\left(1 + \frac{\Delta v}{v_A}\right)^{-1} &\sim 1 - \frac{\Delta v}{v_A} \\
\left(1 - \frac{2v_A}{\sqrt{v_R^2 - v_A^2}} \frac{\Delta v}{\sqrt{v_R^2 - v_A^2}}\right)^{\frac{1}{2}} &\sim 1 - \frac{1}{2} \frac{2v_A}{\sqrt{v_R^2 - v_A^2}} \frac{\Delta v}{\sqrt{v_R^2 - v_A^2}} = 1 - \frac{v_A}{v_R^2 - v_A^2} \Delta v
\end{aligned} \tag{3.18}$$

と近似できる。従って,

$$\Delta\phi \sim \frac{720fH}{v_R} \frac{\sqrt{v_R^2 - v_A^2}}{v_A} \left[1 - \left(1 - \frac{\Delta v}{v_A}\right) \left(1 - \frac{v_A}{v_R^2 - v_A^2} \Delta v\right) \right]$$

ここで,

$$\left(1 - \frac{\Delta v}{v_A}\right) \left(1 - \frac{v_A}{v_R^2 - v_A^2} \Delta v\right) = 1 - \left(\frac{1}{v_A} + \frac{v_A}{v_R^2 - v_A^2}\right) \Delta v + \frac{\Delta v^2}{v_R^2 - v_A^2}$$

であるが, $\frac{\Delta v^2}{v_R^2 - v_A^2}$ は 2 次の微小量であるので無視できる。従って,

$$\begin{aligned} \Delta\phi &= \frac{720fH}{v_R} \frac{\sqrt{v_R^2 - v_A^2}}{v_A} \left(1 - \left[1 - \left(\frac{1}{v_A} + \frac{v_A}{v_R^2 - v_A^2}\right) \Delta v\right]\right) \\ &= \frac{720fH}{v_R} \frac{\sqrt{v_R^2 - v_A^2}}{v_A} \left(\frac{1}{v_A} + \frac{v_A}{v_R^2 - v_A^2}\right) \Delta v \\ &= \frac{720fH}{v_R} \frac{\sqrt{v_R^2 - v_A^2}}{v_A} \frac{v_R^2 - v^2 + v_A^2}{v_A(v_R^2 - v_A^2)} \Delta v \\ &= \frac{720fH}{v_R} \frac{1}{\sqrt{v_R^2 - v_A^2}} \left(\frac{v_R}{v_A}\right)^2 \Delta v \dots\dots\dots (3.19) \end{aligned}$$

式 (3.19) は, 式(3.13) を $v = v_A$ で Taylor 展開したときの 1 次項に等しい。

$$\begin{aligned} \phi(v) &= -\frac{720fH}{v_R} \frac{\sqrt{v_R^2 - v^2}}{v} = -\frac{720fH}{v} \sqrt{\left(\frac{v_R}{v}\right)^2 - 1} \\ \frac{d\phi(v)}{dv} &= -\frac{720fH}{v_R} \cdot \frac{1}{2} \left[\left(\frac{v_R}{v}\right)^2 - 1\right]^{-\frac{1}{2}} \cdot 2 \left(\frac{v_R}{v}\right) \cdot v_R \cdot (-1) \frac{1}{v^2} \\ &= \frac{720fH}{v_R} \frac{1}{\sqrt{\left(\frac{v_R}{v}\right)^2 - 1}} \frac{v_R^2}{v^3} \\ &= \frac{720fH}{v_R} \frac{1}{\sqrt{v_R^2 - v^2}} \left(\frac{v}{v_A}\right)^2 \\ \Delta\phi &= \left. \frac{d\phi(v)}{dv} \right|_{v=v_A} \cdot \Delta v = \frac{720fH}{v_R} \frac{1}{\sqrt{v_R^2 - v_A^2}} \left(\frac{v_R}{v_A}\right)^2 \Delta v \dots\dots\dots (3.20) \end{aligned}$$

このように $\Delta\phi$ は Δv に比例し, その比例定数は SAW の周波数 f , 溝高さ H , 基準溶液中の音速 v_A , レイリー波の伝播速度 v_R によって定まることがわかる。

点 B での波の挙動について, 溶液中に縦波放射された縦波は溝上壁で全反射される。これは図 3.6 に示したスネルの法則により説明できる。スネルの法則の関係式では,

$$\frac{v_A}{\sin \theta} = \frac{v_d}{\sin \theta_d} \dots\dots\dots (3.21)$$

$$\frac{v_A}{\sin \theta} = \frac{v_s}{\sin \theta_s} \dots\dots\dots (3.22)$$

v_A は純水中の音速, v_d は使用した溝ホルダーのガラス基板の縦波速度、 v_s は横波速度である。使用した溝の材質はガラス基板であり, v_d は 5640m/s, v_s は 3280m/s⁽²⁵⁾である。式(3.1)から純水中への縦波放射角は 28.3deg であり, 式(3.21), 式(3.22)に代入すると,

$$\sin \theta_d = \frac{5640 \times \sin 28.3}{1497.5} = 1.79 > 1$$

$$\sin \theta_s = \frac{3280 \times \sin 28.3}{1497.5} = 1.04 > 1$$

となり, 溝ホルダー素材であるガラスには屈折波が伝わらず, すべて溝上壁で全反射される。

点 C での波の挙動について, 全反射された基板に入射した波はレイリー波に変換され, 再び溶液中に縦波を放射しながら伝播し, 出力側 IDT 電極に到達する。水晶基板上へ波が入射するときスネルの法則に従い全反射されるはずであるが, レイリー角で入射した場合, 波は反射ではなく水晶基板を伝わる SAW に変換される。この現象は 1950 年~1970 年代にかけて A.Schoch らによって報告されている^{(27),(28),(29)}。

ただしこの時, 溝上壁で反射された縦波が側壁に遮られず水晶基板に到達するためには, AC 間の距離が溝開口形状の幅 L より短くなければならない。この条件から, 位相シフトが観測されるためには $L > 2H \tan \theta$ の関係が成り立たなければならないことがわかる。

3.4 溝開口形状の幅の違いによる波の伝達時間測定

溝ホルダーを設計する際に、溝開口形状の幅 L の決定には以下の 2 つを考慮する必要がある。まず、レイリー波が溝内部の試料溶液に入るためには、開口形状をレイリー波の波長 $\lambda = v_R/f = 16\mu\text{m}$ よりも大きくする必要がある。次に、3.3 で述べたように位相シフトが観測されるためには、 $L > 2H\tan\theta$ を満たすようにする必要がある。純水中への縦波放射角 $\theta = 28.3\text{degree}$ 、溝開口形状の溝高さ $H = 0.25\text{mm}$ の時、 $L \geq 0.27\text{mm}$ で位相シフトが観測される条件となる。今回はこの条件を満たさない $L = 0.2\text{mm}$ と満たす $L = 0.4\text{mm}$ の溝幅を作製し、純水を溝内部へ入れる前後でのレイリー波の伝達時間を測定し比較した。

また、 $L > 2H\tan\theta$ を満たす $H = 0.79\text{mm}$ のとき $L = 1.0\text{mm}$ の溝幅を作製し、比較のため評価した。

図 3.7 に示した溝幅(L)0.2mm-溝高さ(H)0.25mm の溝開口ホルダーを用い、溝開口内へ純水を入れる前後でのパルス電気信号の測定結果を図 3.8 に示す。純水を入れる前後にて、信号到達時間に変化はなかった。用いた溝開口形状では、 $L > 2H\tan\theta$ の条件を満たさず、これは我々のモデルにおいて、溝上壁で反射された縦波が水晶基板に到達できない条件である。従って、観測された信号は、水晶基板上を直進する漏えい SAW である。純水を溝開口内に入れることで信号強度が減少するのは、漏えい SAW が純水中に縦波を放射しエネルギー散逸を起こすためであると考えられる。

図 3.9 に示した溝幅(L)0.4mm-溝高さ(H)0.25mm の溝開口ホルダーを用い、溝内へ純水を入れる前後で測定したパルス電気信号の結果を図 3.10 に示す。純水を溝開口内へ入れることにより、信号到達時間に $0.36\mu\text{s}$ の遅延が観測された。用いた溝開口形状は $L > 2H\tan\theta$ の関係を満たす。これは、溝上壁で反射された縦波が水晶基板に到達できる場合に相当する条件である。溝幅(L)0.4mm-溝高さ(H)0.25mm の溝開口ホルダーを用いた場合、溝内を伝播する縦波時間の計算値は $0.31\mu\text{s}$ になり、測定値とほぼ一致する結果を得た。

実験条件である $f = 197\text{MHz}$ 、 $H = 0.25\text{mm}$ 、 $v_R = 3158\text{m/s}$ 、 $v_t = 1497.5\text{m/s}$ より、 $\Delta\phi = 17.96(\text{degree} \cdot \text{s/m}) \Delta v$ の関係が期待される。図 3.11 に示したエタノール水溶液濃度と位相シフトの関係において、質量濃度を文献値⁽³⁰⁾から水溶液中の音速に変換し横軸を Δv とした図を図 3.12 に示す。測定値の $\Delta\phi$ と Δv の関係を最小二乗法を用いると、その傾きは $17.31\text{degree} \cdot \text{s/m}$ となり、本モデルと定量的にほぼ一致することが確認された。

図 3.13 に示した溝幅(L)1.0mm-溝高さ(H)0.79mm の溝開口ホルダーを用い、溝内へ純水を入れる前後で測定したパルス電気信号の結果を図 3.14 に示す。用いた溝開口形状は $L > 2H\tan\theta$ の関係を満たす。信号到達時間に $0.96\mu\text{s}$ の遅延が観

測され、溝内を伝播する縦波時間の計算値は $0.93\mu\text{s}$ であり、ほぼ一致する結果を得た。また、溝高さ $H=0.79\text{mm}$ とした場合のエタノール水溶液中の音速と位相シフトの関係において、シミュレーションと測定値を比較した結果を図 3.15 に示す。 $H=0.25\text{mm}$ と比較すると、溝開口形状が大きいいため、シミュレーション値と測定値に差が見られたが、ほぼ一致した結果を得た。

水溶液の種類を変更した場合でも確認した。無機塩類として NaCl を用いた。血液やリンパ液中に 1%弱含まれる NaCl は体の水分量を調整する重要な役割を果たしている。希釈液は純水を用い、質量濃度 0.1~2.3%で作製した。水溶液濃度での位相シフトを測定した結果を図 3.16 に示す。エタノール水溶液と同様に、文献値から水溶液中の音速に変更した図を図 3.17 に示す。シミュレーション値と測定値は NaCl 水溶液でもほぼ一致する結果を得た。

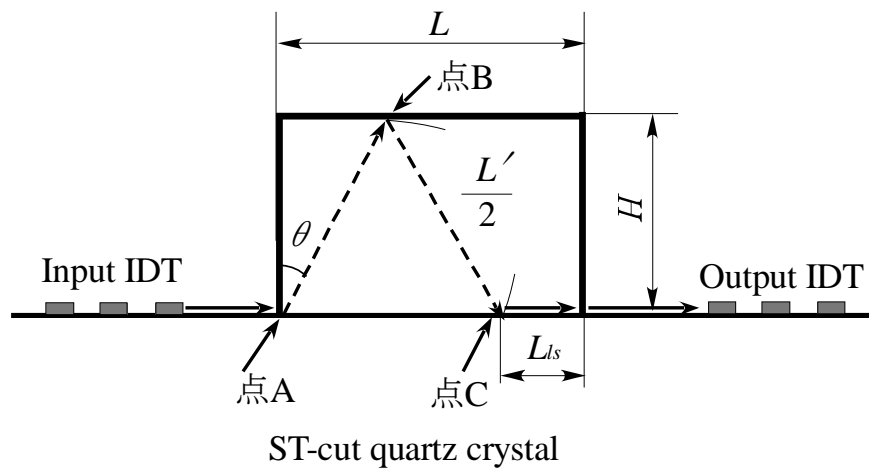


図 3.5 レイリー波の縦波放射を使用したセンサー概略図
 Fig.3.5 Schematic drawing of a sensor using the longitudinal wave radiation of Rayleigh-SAW.

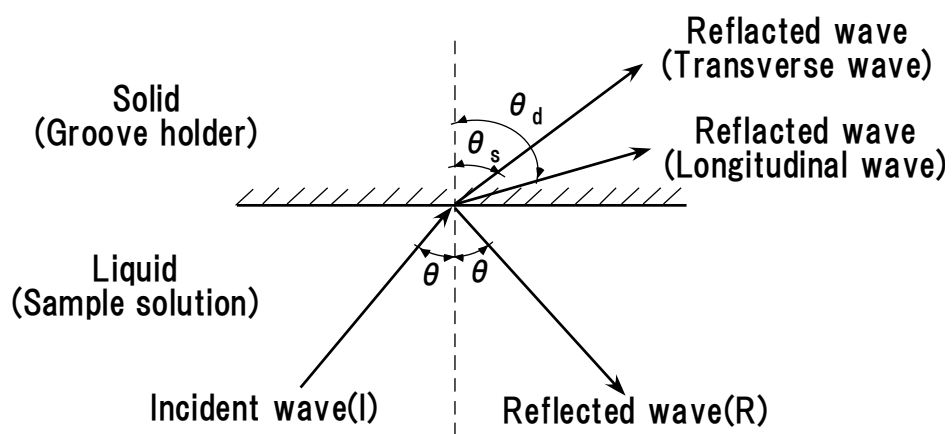


図 3.6 スネルの法則に基づく固液界面での入射波の挙動

Fig.3.6 Behavior of the incident wave at the solid-liquid interface based on Snell's law.

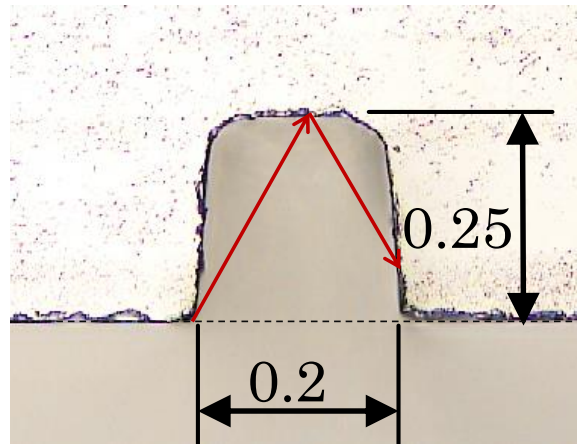


図 3.7 溝幅 0.2mm-溝高さ 0.25mm の断面形状

Fig.3.7 Photograph of the cross-sectional shape of the groove holder.
(The groove is 0.2mm width and 0.25mm depth.)

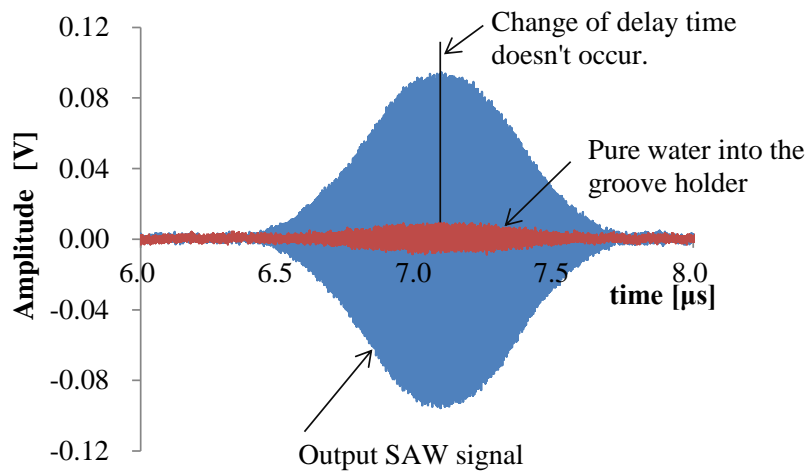


図 3.8 溝幅 0.2mm-溝高さ 0.25mm の溝を使用したときのパルス波の特性比較
(溝ホルダー内に純水を入れる前後での信号比較)

Fig.3.8 Comparison of the pulse signal with the empty groove(air) and that with the pure water filled groove. The groove was 0.2mm width and 0.25mm depth.

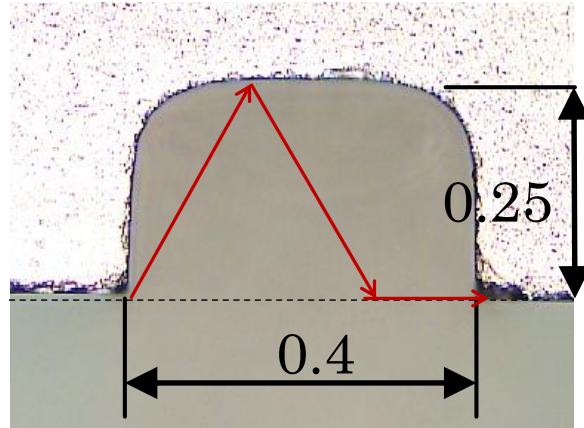


図 3.9 溝幅 0.4mm-溝高さ 0.25mm の断面形状

Fig.3.9 Photograph of the cross-sectional shape of the groove holder.
(The groove is 0.4mm width and 0.25mm depth.)

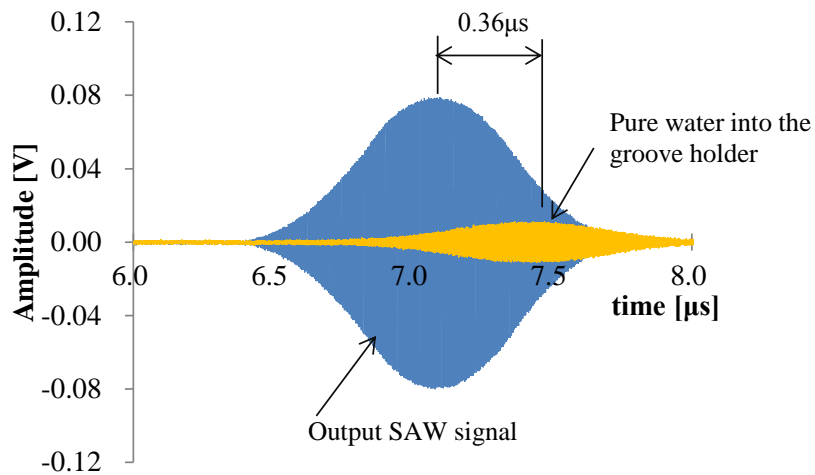


図 3.10 溝幅 0.4mm-溝高さ 0.25mm の溝を使用したときのパルス波の特性比較
(溝ホルダー内に純水を入れる前後での信号比較)

Fig.3.10 Comparison of the pulse signal with the empty groove(air) and that with the pure water filled groove. The groove was 0.4mm width and 0.25mm depth.

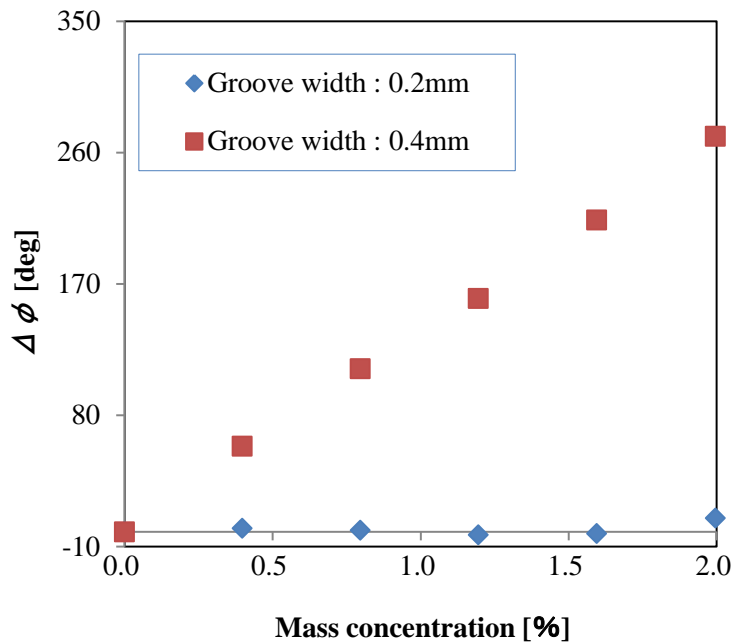


図 3.11 溝幅の違いによるエタノール濃度による位相シフトの関係
 Fig.3.11 Dependence of phase shift on the mass concentration of ethanol due to differences in the groove width.

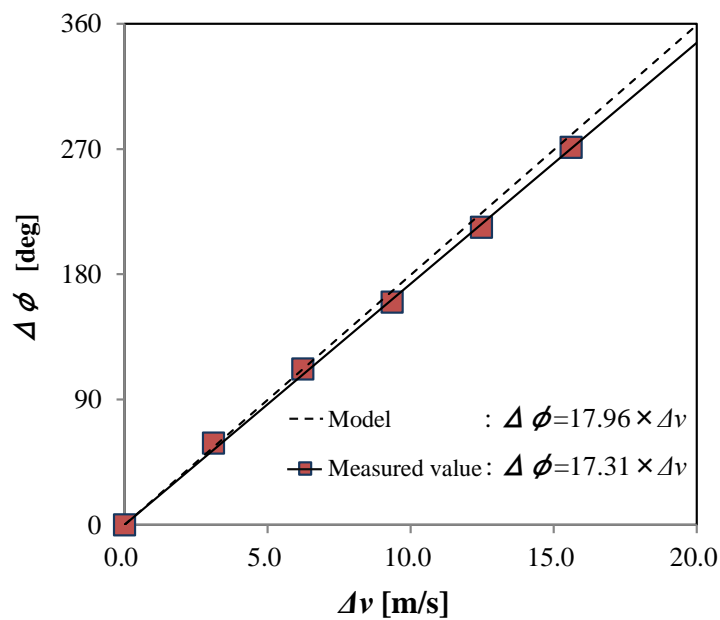


図 3.12 エタノール水溶液中の音速差による位相シフトのシミュレーション値と測定結果の比較

Fig.3.12 Comparison of the measured value and relationship model between the phase shift and the sound velocity shift in ethanol solution.

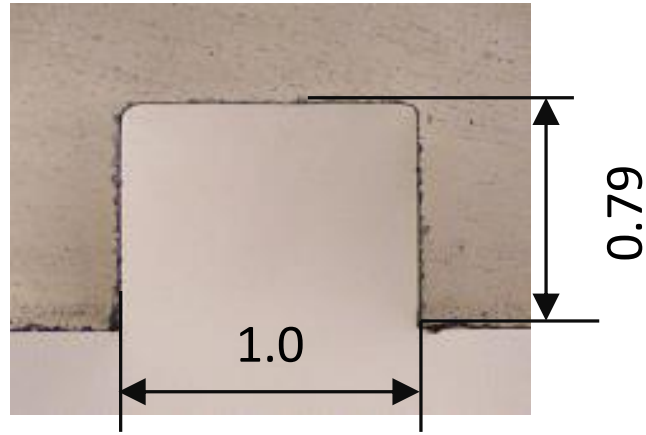


図 3.13 溝幅 1.0mm-溝高さ 0.79mm の断面形状
 Fig.3.13 Photograph of the cross-sectional shape of the groove holder.
 (The groove is 1.0mm width and 0.79mm depth.)

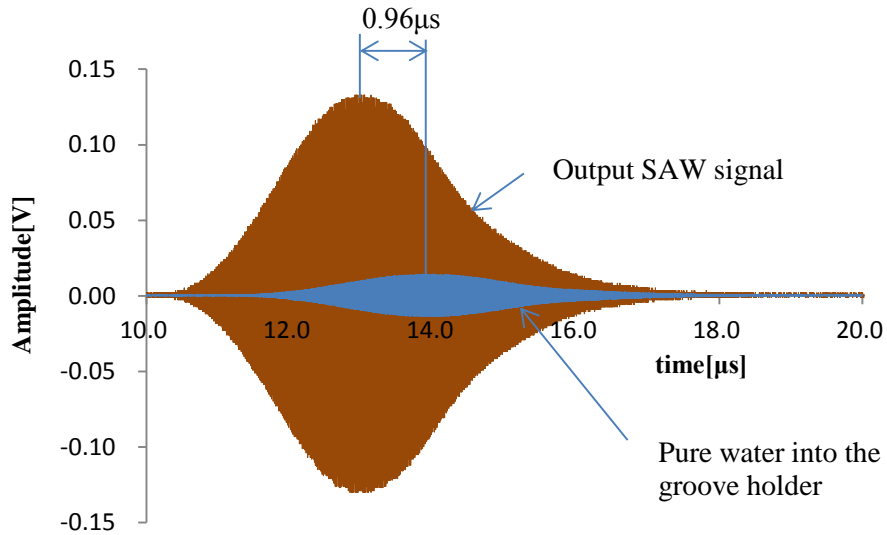


図 3.14 溝幅 1.0mm-溝高さ 0.79mm の溝を使用したときのパルス波の特性比較
 (溝ホルダー内に純水を入れる前後での信号比較)
 Fig.3.14 Comparison of the pulse signal with the empty groove(air) and that with the
 pure water filled groove. The groove was 1.0mm width and 0.79mm depth.

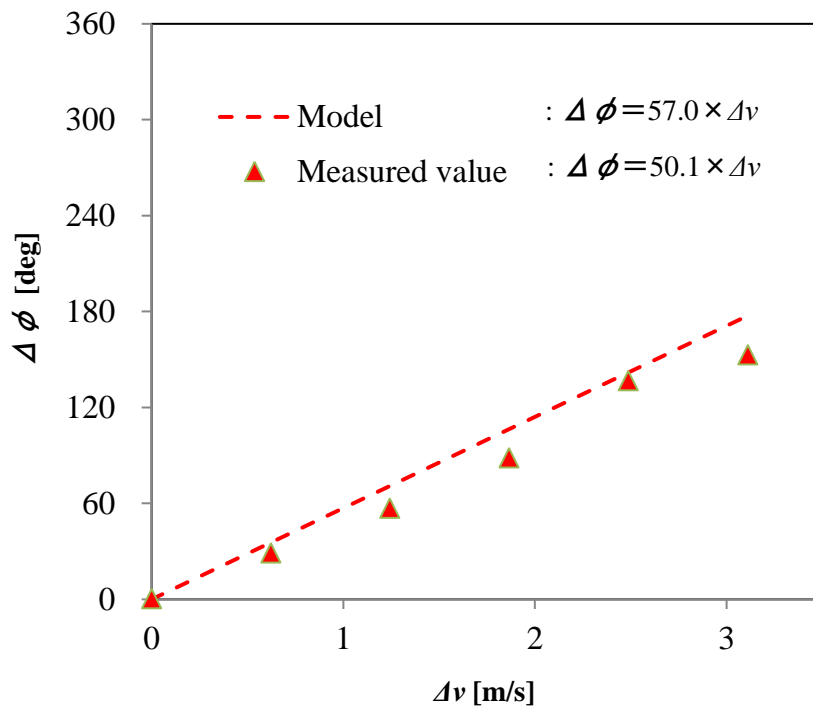


図 3.15 エタノール水溶液中の音速差と位相シフトのシミュレーション値と測定結果の比較(溝高 0.79mm の場合)

Fig.3.15 Comparison of the measured value and relationship model between the phase shift and the sound velocity shift in ethanol solution(The groove depth is 0.79mm).

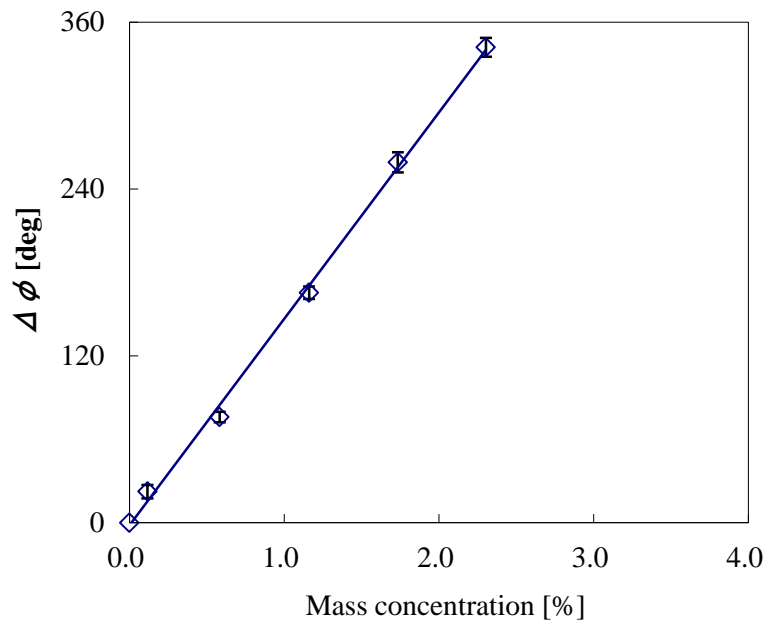


図 3.16 NaCl 水溶液濃度による位相シフトの関係

Fig.3.16 Dependence of phase shift on the mass concentration of NaCl solution.

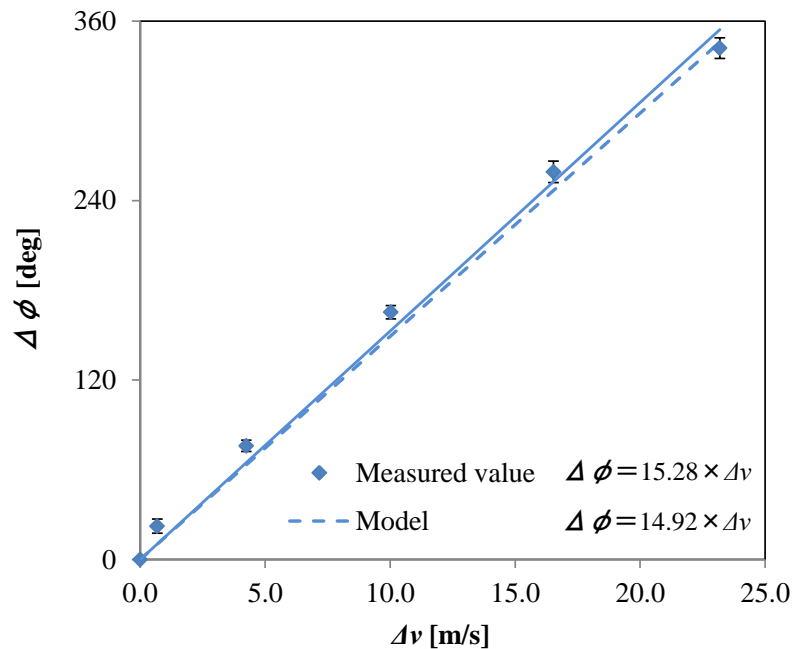


図 3.17 NaCl 水溶液中の音速差と位相シフトのシミュレーション値と測定結果の比較(溝高さ 0.25mm の場合)

Fig.3.17 Comparison of the measured value and relationship model between the phase shift and the sound velocity shift in NaCl solution(The groove depth is 0.25mm).

3.5 あとがき

本研究では親水性と撥水性部分を設けた溝ホルダーを伝播路上に設置した従来よりも周波数が高い数百 MHz での縦波放射を利用したレイリー型 SAW 溝流路デバイスを提案し、新しい SAW のモデルを導出した。本装置で測定した基準溶液に対する位相差は、IDT 電極で励振される周波数、溝開口の溝高さ、基準溶液中の音速、レイリー波の伝播速度を比例定数とし、測定する試料溶液中の音速差と比例関係にある。また、位相差を測定するためには、溝形状は溝開口内で放射された縦波が溝上壁で反射され水晶圧電基板に戻る条件にする必要があることを実験的に証明した。

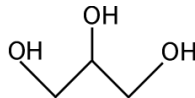
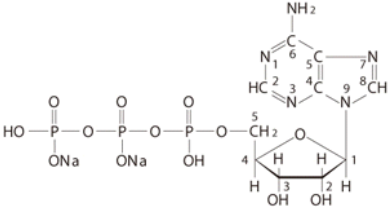
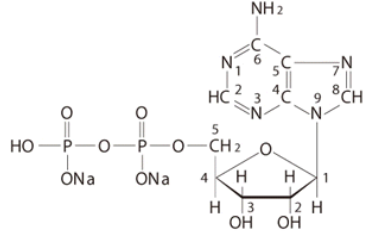
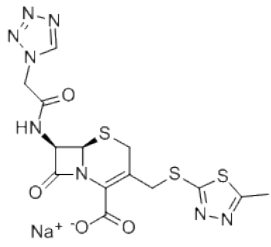
第四章 バイオセンサーを想定した液体試料への応用

4.1 まえがき

本章では、開発したレイリー型 SAW 溝流路デバイス装置をラボオンチップに搭載されることを想定して開発しているため、試料溶液に抗体、生体エネルギー代謝物質として知られるアデノシン-5'-三リン酸二ナトリウム(ATP)水溶液や血液濃度などを本装置で測定した結果について述べる。その他に、粘度測定用として用いられるグリセリン水溶液、牛乳内の抗生物質などを用いて溶液の特性を評価した結果について述べる。使用した試料溶液の物質名、分子名などの一覧を表 4.1 に示す。

表 4.1 使用した試料溶液の特性

Table.4.1 The characteristics of the sample solution.

項	物質名	分子式	分子量	分子構造
4.2	グリセリン	$C_3H_8O_3$	92.1	
4.3	ATP (アデノシン-5'-三リン酸 二ナトリウム)	$C_{10}H_{16}N_5O_{13}P_3Na_2$	551.2	
4.3	ADP (アデノシン-5'-二リン酸 二ナトリウム)	$C_{10}H_{15}N_5O_{10}P_2Na_2$	471.2	
4.4	セファゾリンナトリウム	$C_{14}H_{14}N_8O_4S_3Na$	476.5	

4.2 グリセリン水溶液の濃度評価

MEMS 圧力センサー方式を用いた粘度計が研究され、すでに装置が販売されている。この装置は、シリコン基板上に形成されたマイクロチャネルの中へ試料溶液を一定の流量で流して測定するため、液量として数十～数百 μL が必要とされる⁽³¹⁾。本装置で測定可能となれば、溶液量が数 μL でよい。また、グリセリンは、粘性測定の感度評価用標準液として用いられる。

今回実験に用いたグリセリン水溶液は、純水を希釈液として質量濃度(C)0～3.1%における位相シフトを評価した。測定結果を図 4.1 に示す。 $\Delta\phi$ と C の関係を最小二乗法を用いて求めると、 $\Delta\phi=81.7\times C$ となる。測定条件である $f=157.6\text{MHz}$, $H=0.25\text{mm}$, $v_R=3158\text{m/s}$, $v_t=1497.5\text{m/s}$ と、得られた $\Delta\phi$ を式(3.20)に代入して得た Δv との関係も示す。グリセリン水溶液の質量濃度 1%対して、溶液中の音速変化 Δv は 5.7m/s になる結果を得た。このように、質量濃度から溶液中の物性パラメータである音速が算出可能である。

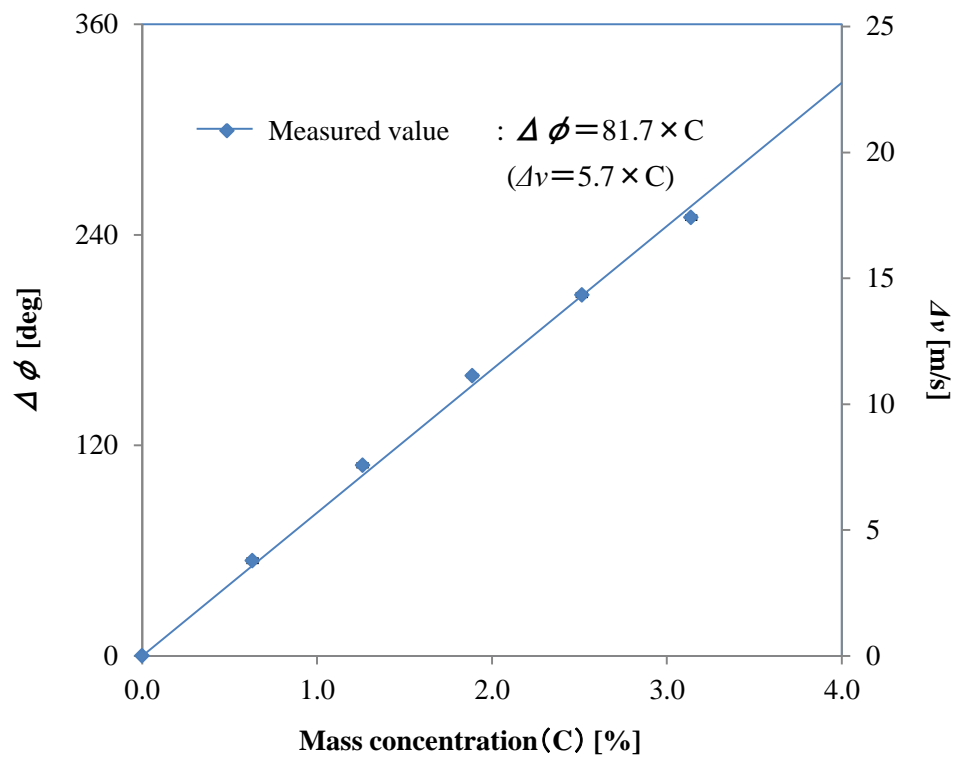


図 4.1 グリセリン水溶液濃度による位相シフトおよび溶液中の音速差の関係

Fig.4.1 Dependence of phase shift and difference in the sound velocity on the mass concentration of glycerin solution(The groove depth is 0.25mm).

4.3 アデノシン物質の水溶液濃度の測定結果

アデノシン-5'-三リン酸二ナトリウム(ATP)は、生体内のエネルギー代謝・合成の重要な役割をしている。また、水産物の鮮度を測定する指標 K 値は、ATP濃度との関連性が知られている⁽³²⁾。ATPは、時間経過とともにATP→ADP(アデノシン二リン酸)→AMP(アデニル酸)→IMP(イノシン酸)→HxR(イノシン)→Hx(ヒポキサンチン)の順に分解されるため、ATP濃度を測定できる高精度なセンサーが求められている⁽³³⁾。

まず、ATP(MW : 551.2)粉末(オリエンタル酵母工業製)を、純水を溶媒として濃度 0~30mM の範囲で作製した。SAW の中心周波数を 39.5, 157.6, 197MHz の3種類の周波数デバイスを準備し測定した結果を図 4.2 に示す。使用した溝ホルダーは、溝幅 $L=0.4\text{mm}$ -溝高さ $H=0.25\text{mm}$ を用いた。SAW の中心周波数 39.5MHz では、ATP 濃度によって $\Delta\phi$ に変化がなく、検出限界以下であることがわかった。中心周波数 157.6 と 197MHz では、 $\Delta\phi$ は ATP 濃度に比例していることがわかった。また、周波数が高い 197MHz デバイスの方が位相シフト差が大きく濃度に対する感度が高いことがわかり、ATP モル濃度 1mM で $\Delta\phi$ が 4.8deg 変化する結果を得た。

ATP(MW : 551.2)と比較のために用いた ADP(MW : 471.2)粉末(オリエンタル酵母工業製)を、それぞれ純水を溶媒として濃度 0~30 μM の範囲で作製した。周波数 157.6MHz, $L=0.4\text{mm}$ - $H=0.25\text{mm}$ で $\Delta\phi$ を測定した結果を図 4.3 に示す。また、測定した $\Delta\phi$ を式(3.20)に代入して得た Δv との関係も示した。モル濃度と位相シフトの関係において、ATP と ADP は同じ直線上になっている。これは、質量(g/L)ではなく分子数(個/L)によって溶液中の音速が変化していることを示している。ATP と ADP 水溶液においては、モル濃度 1mM(分子数 6.02×10^{20} 個/L)で位相シフトが 3.1deg 変わり、溶液中の音速が 0.25m/s 変化する結果を得た。

溝ホルダーの開口形状が大きい $L=1.0\text{mm}$ - $H=0.8\text{mm}$ としたときの位相シフトを測定した結果を図 4.4 に示す。溝開口形状 $L=0.4\text{mm}$ - $H=0.2\text{mm}$ と比較すると約 4 倍感度が上がる結果となった。

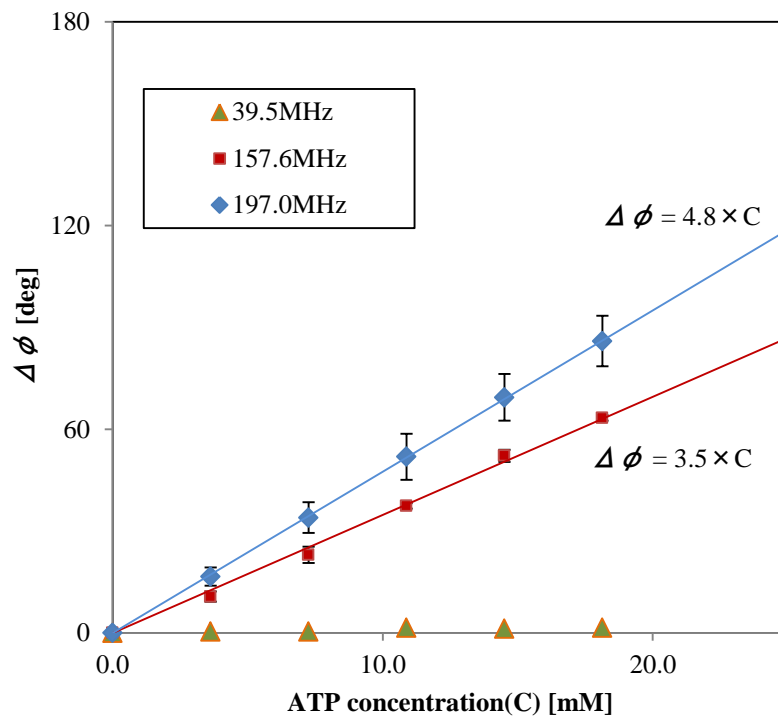


図 4.2 ATP 水溶液濃度と位相シフトの SAW 中心周波数依存性
 Fig.4.2 Dependence of the center frequency between phase shift and the concentration in ATP solution.

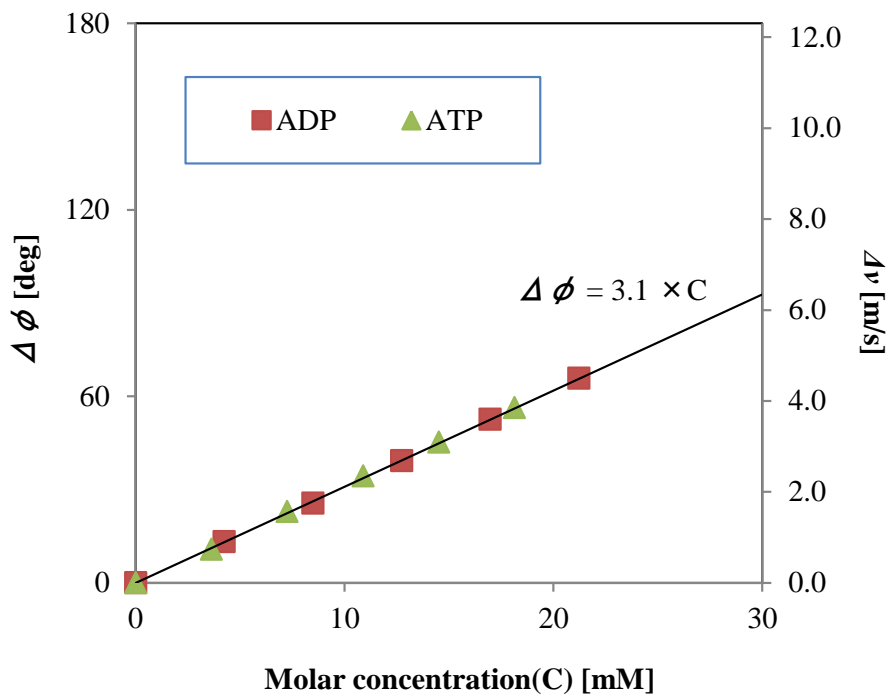


図 4.3 ADP, ATP 水溶液の質量濃度による位相シフトと水溶液中の音速シフトの関係

Fig.4.3 Dependence of phase shift and sound velocity in ADP and ATP solution based on the phase of pure water.

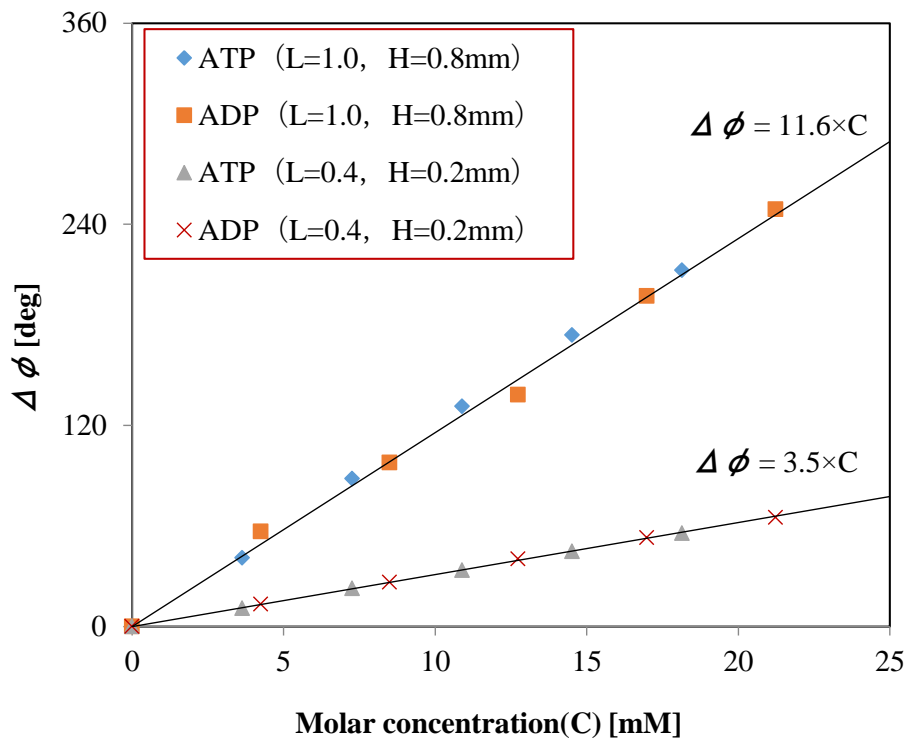


図 4.4 溝形状の違いによる ADP, ATP 水溶液の質量濃度と位相シフトの関係

Fig.4.4 Dependence of mass concentration and phase shift in ADP and ATP solution due to the difference in the groove shape.

4.4 生乳内の抗生物質セファゾリンの測定結果

セファゾリンは、主に家畜における一般的な乳房炎病原菌を含むグラム陽性細菌に抗菌活性を示す物質である⁽³⁴⁾。

セファゾリンが含まれた生乳を搾乳するヒューマンエラーが道内で年間約1,000トン起きており、農家では多大な損害が起きている。生乳内のセファゾリンを検出できる簡易センサーが求められており、レイリー型 SAW 溝流路デバイス装置にて測定した。

はじめに、市販の牛乳(メグミルク)に質量濃度 0~21mM になるように粉末のセファゾリンナトリウム(関東化学製, MW: 476.5)を混入させた。セファゾリンナトリウムを混入させていない市販牛乳の位相を基準とした測定結果を図 4.5 に示す。使用した SAW の中心周波数は 157.6MHz, 溝ホルダー形状として、溝幅 $L=0.4$ -溝高さ $H=0.25$ mm と $L=1.0$ mm- $H=0.8$ mm の 2 種類で比較した。測定は、各濃度に対して 3 回ずつ行った。2 種類の溝ホルダーで評価したが、どちらもセファゾリンナトリウム濃度に対して位相シフトは比例関係にある結果だった。溝形状が大きい $L=1.0$ mm- $H=0.8$ mm では、セファゾリンナトリウム濃度 1mM で $\Delta\phi$ が 7.4deg 変わる結果だったが、測定バラツキが大きい傾向にある。試料溶液の種類や濃度によって、最適な周波数と溝形状を選定して使用する必要があることがわかった。

次に、牛の乳から直接搾り取った生乳で測定を試みた。セファゾリン含有有無による生乳 5 サンプルを入手(入手先: 北海道留萌振興局)し、本装置にて位相測定を行った。5 つの生乳サンプルの種類を表.4.2 に示す。セファゾリンが含まれるサンプルは No.1 と No.2, 含まないサンプルは No.3, No.4, No.5 である。ただし、No.1 と No.2 に含まれるセファゾリン濃度は不明である。生乳サンプル No.1 の位相を基準にし、各サンプルの位相シフト測定結果を図 4.6 に示す。セファゾリン含有有無による位相シフト量に傾向が見られなかった。これは、生乳内に含まれるセファゾリン以外の脂肪やタンパク質などの成分が生乳内の音速変化に影響したためと考えられる。

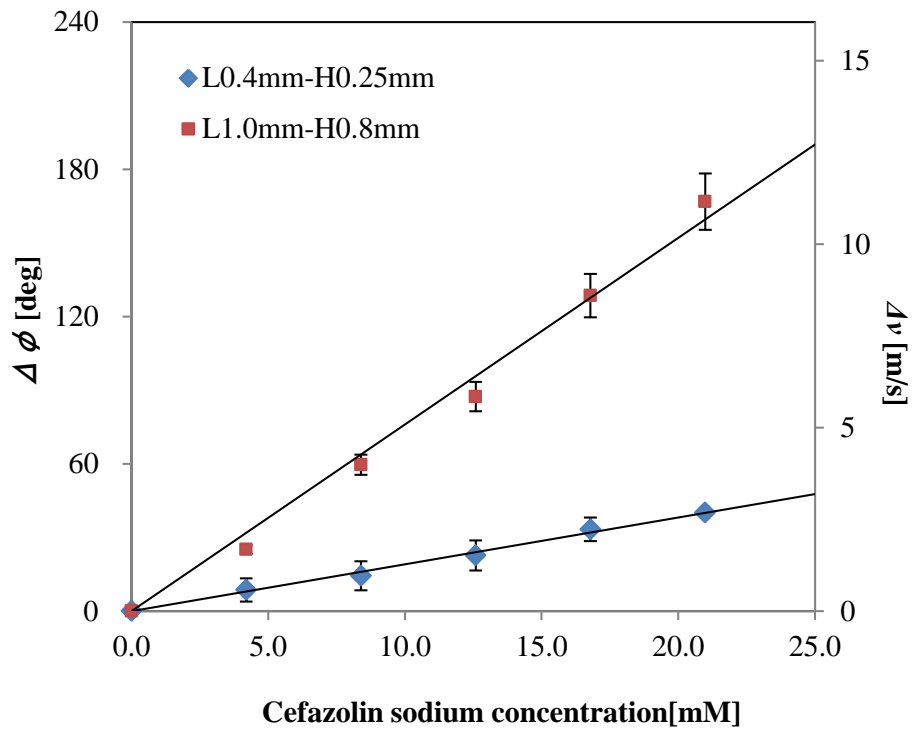


図 4.5 市販牛乳を用いたセファゾリンナトリウム濃度と位相シフトおよび音速の関係

Fig.4.5 Dependence of phase shift and the sound velocity in cefazolin-Na solution based on the phase of market milk.

表 4.2 生乳サンプルの種類

Table.4.2 The kind of raw milk sample.

サンプル番号	区分
1	抗生物質入り 乳房炎治療中
2	抗生物質入り 乳房炎治療中
3	分娩後4日目の生乳
4	泌乳後期の生乳
5	分娩後80日経過した生乳

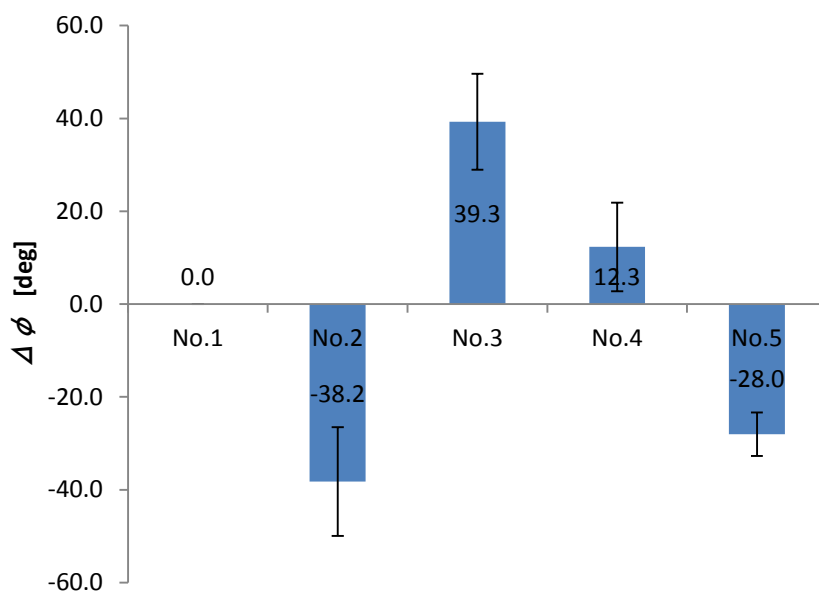


図 4.6 生乳内に含まれるセファゾリンの位相シフト測定結果

Fig.4.6 The measurement result of phase shift in cefazolin solution based on the raw milk.

4.5 免疫グロブリン(抗 GST 抗体)濃度, 牛血清アルブミン(BSA)濃度, 血液濃度の測定結果

免疫グロブリンは, 一般的には“抗体”と呼ばれ, 目的の花粉や細菌などのアレルゲン(抗原)と結合することでその作用を示す。抗体そのものが菌を殺すのではなく, 抗体が抗原に結合することで生体が様々な機能を持つことである。免疫グロブリンは, IgG・IgA・IgM・IgD・IgE の 5 種類が知られている。とくに IgG は血清免疫グロブリンの約 80% を占めており, 慢性の炎症や悪性腫瘍がある際に増加することが知られている。

血清アルブミンは, 血清中に多く存在するタンパク質の一つである。アルブミン濃度が低下している場合は, 肝疾患や栄養失調が疑われる指標となっている。牛血清アルブミン(BSA)は, 牛の血液中に含まれているタンパク質の一種で理化学実験において一般的に用いられている。

はじめに, 抗 GST 抗体として, GST と特異的に結合する抗 GST モノクローナル抗体(Avnova 社製, カタログ No. : H00002938-M01, MW : 約 150000)を 0.5mg/ml(3.33 μ M)になるように, リン酸緩衝液 PBS(pH7.4)で希釈した溶液を用いた。濃度を 0.1~0.5 μ M の範囲で 0.1 μ M 毎に純水で希釈し試料溶液を作製した。実験条件 SAW の中心周波数 $f=157.6$ MHz, 溝ホルダーの開口形状を溝幅 $L=0.4$ mm—溝高さ $H=0.2$ mm とした位相シフト測定結果を図 4.7 に示す。濃度によって位相シフトが大きくなり, 比例関係にある結果を得た。

次に, BSA(サーモフィッシャー社製, 型番 23209, 原液濃度 2mg/ml, MW : 66000)濃度を 2~6 μ M の範囲になるように純水で希釈し溶液を作製した。SAW の中心周波数を 39.5MHz と 157.6MHz のデバイスを準備し, 周波数の違いによる位相シフトを測定した結果を図 4.8 に示す。周波数が高いほど濃度に対する位相シフト量が大きくなり $f=157.6$ MHz デバイスにて 1 μ M で位相シフト 61.7degree になる結果を得た。

最後に, 血液中には, 抗 GST 抗体, アルブミンを始め, 赤血球, 白血球, 血小板など様々な物質が含まれている。血液の PBS 希釈による位相シフト測定結果を図 4.9 に示す。血液濃度によって位相シフトが大きくなり, 比例関係にある結果を得た。

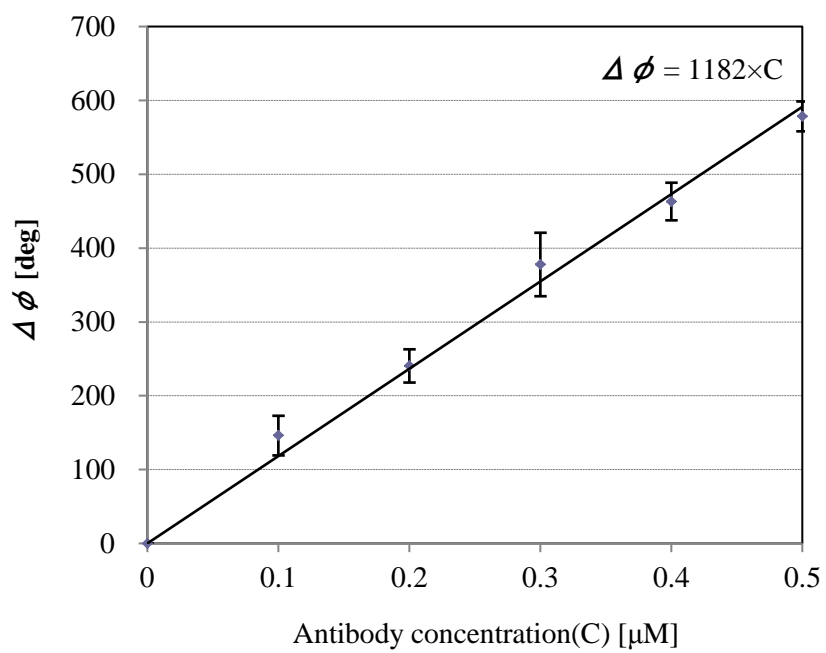


図 4.7 抗 GST 抗体濃度と位相シフトの関係

Fig.4.7 Dependence of phase shift in Anti-GST antibody based on the phase of PBS.

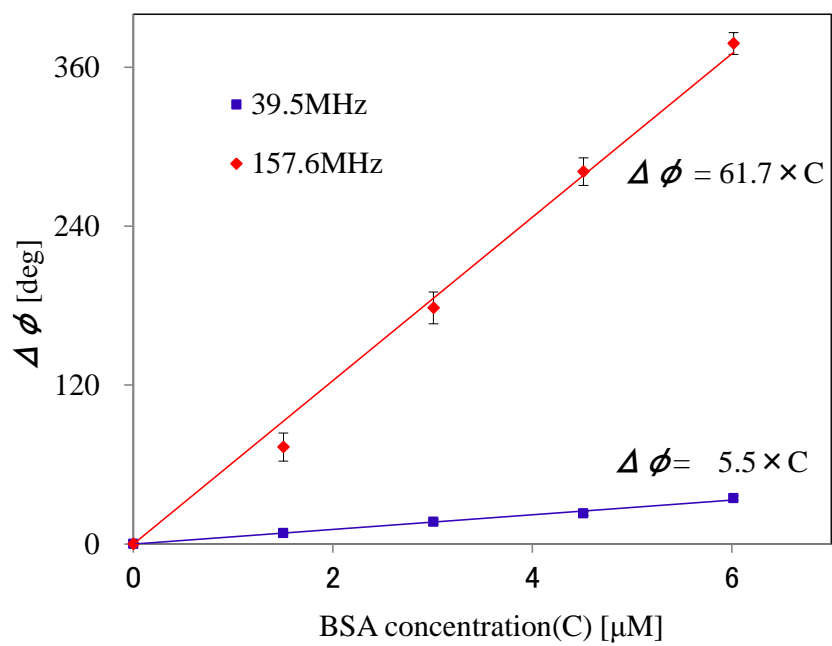


図 4.8 BSA 濃度と位相シフトの関係

Fig.4.8 Dependence of phase shift in BSA based on the phase of PBS.

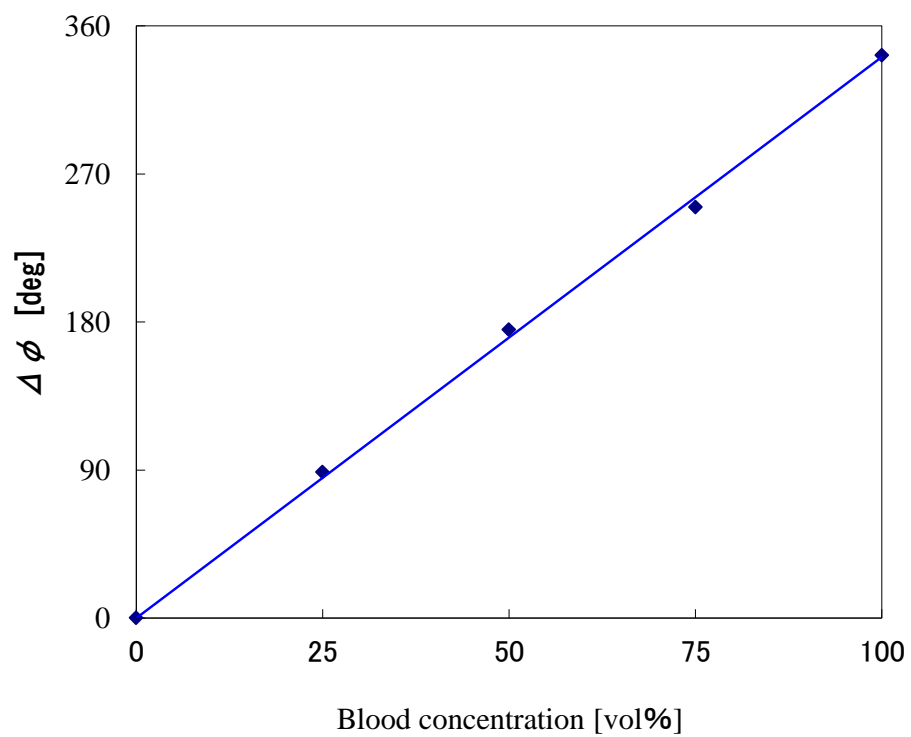


図 4.9 血液濃度と位相シフトの関係

Fig.4.9 Dependence of phase shift in blood based on the phase of PBS.

4.6 あとがき

本章では、まず、粘度評価溶液として用いられるグリセリン水溶液を使用し、位相シフトの測定から物質パラメータである溶液中の音速を算出した。本装置で位相シフトを測定することで、現在販売されている装置よりも $1\mu\text{L}$ という微量で濃度が定量的に測定できることを明らかにした。

次に、生体内のエネルギー代謝・合成の重要な役割をしているアデノシン物質を用い、SAW の中心周波数の違いによる測定感度について紹介した。式(3.20)では、位相シフト $\Delta\phi$ が周波数 f 、溝高さ H を比例定数として、溶液中の音速差 Δv と比例することを示した。高周波ほど、また溝開口形状が大きいほど位相シフトが大きくなることを実験的に明らかにした。また、ほぼ同じ分子構造を持つ ADP と ATP は、分子数(個/L)によって溶液の物性である音速が変化する結果を得た。1.2 項で示したように Sauerbrey の式に則る QCM では、質量によって周波数変化を生じることがわかっているが、溶液中に縦波放射するレイリー波を利用した SAW デバイスでは、測定した位相変化が質量(g/L)ではなく分子数(個/L)によって溶液中の音速が変化している可能性を見出した。今後、様々な溶液を用いて実験を行い、分子数と溶液中の音速の関係について立証することが課題である。

抗生物質セファゾリンを用いた実験では、市販の牛乳を用い抗生物質であるセファゾリンナトリウム $0\sim 21\text{mM}$ の範囲において位相シフトが比例し、定量的に濃度測定できる結果を得た。しかし、牛乳には様々な物質が含まれていることから、検体の異なる生乳では様々な物質が位相シフト量に影響して結果だった。測定対象物を検出したい場合は、遠心分離やフィルターなどで生乳内に含まれる他タンパク質や脂肪物質を除去すればセファゾリン濃度を検出できる可能性がある。

免疫グロブリンや血液を用いた実験においても、濃度によって位相シフト量が比例関係にある結果を得た。抗原抗体反応有無によって溶液中の分子数が変化すれば、先に示したように、分子数によって変わる溶液中の音速を、開発したレイリーSAW 溝流路デバイスで計測できる可能性がある。

第五章 総括と今後について

5.1 まとめ

本論文ではレイリーSAWを使った溶液センサーの実用化に向けた装置開発と溶液特性に対し数値解析とその考察を行った。本実験結果から次のことが明らかになった。

本研究の目的としたSAWモードの一つであるレイリー波の液体中への縦波放射を利用したセンサーの作製においては、撥水性と親水性を設けたガラス製の溝ホルダーを設置し、溝開口内に試料溶液を閉じ込めることで液の形状を固定し、周波数200MHz帯まで測定を可能にした。

溝開口内に閉じ込められた試料溶液内において、レイリー波の挙動をパルス波を用いて解析した。その結果、レイリー波が試料溶液中へ縦波放射し、使用したガラス製の溝開口の底で縦波が反射し、圧電材料である水晶基板に戻り、再びレイリー波に変換され出力側IDTで受信していることを実験的に明らかにした。本装置で測定した基準溶液に対する位相差は、IDT電極から励振される周波数、溝開口の溝高さ、基準溶液中の音速、レイリー波の伝播速度を比例定数とし、測定する試料溶液中の音速差と比例関係にある。また、位相シフトを測定するためには、溝形状は溝開口内で放射された縦波が溝上壁で反射され水晶圧電基板上に戻る条件にする必要があることをアルコール水溶液、無機塩類であるNaCl水溶液を用いて実験的に証明した。

バイオセンシングに応用するため用いた粘性のあるグリセリン水溶液、抗体や血液などのタンパク質濃度、牛乳内の抗生物質実験においても本装置を用いることで濃度を定量的に測定できることを明らかにした。また、試料溶液は、毛細管現象によって容易に溝開口内に出し入れが可能で、バイオセンシング技術として必要な微量溶液量数 μL にて検出できる装置設計を達成できた。

本研究で明らかにした周波数および溝ホルダーの溝幅 H と溝高さ L を最適化し、数 μL の微量溶液にて $\mu\text{M}\sim\text{nM}$ のタンパク質や抗原抗体反応の検知を目的としたバイオセンサーへの応用を進めて行きたい。レイリー波を用いたSAWバイオセンサーの実現によって世界中の人命が救えるように本研究を継続していく。

参考文献

- (1) 特許庁：「バイオセンサ～酵素・微生物を利用した電気化学計測～」，平成 19 年度特許出願技術動向調査報告書， p.2(2008)
- (2) ㈱グローバルインフォメーション：「Molecular Diagnostics(Technologies and Global Markets)」， (2013)
- (3) 馬場嘉信：「ナノテクノロジー時代のバイオ分離・計測技術」，シーエムシー出版， p.3(2006)
- (4) 近藤淳：“弾性表面波センサーの基礎と応用”，信学技報 IEICE Fundamentals Review Vol.6 No.3, p.166(2013)
- (5) Moussa Hoummady, Andrew Campitelli and Wojtek Wlodarski：“Acoustic wave sensors : design sensing mechanisms and applications”，Smart Mater, struct6, p.647(1997)
- (6) Thomas M.A. Gronewold：“Surface acoustic wave sensors in the bioanalytical field: Recent trends and challenges”，ANALYTICA CHIMICA ACTA 603, p.119(2007)
- (7) 中島匡史：「弾性表面波デバイスのラボオンチップへの応用に関する研究」，修士学位論文， p.15(2012)
- (8) Lord Rayleigh：“On Waves Propagated along the Plane Surface of an Elastic Solid”，Proc.Math.Soc., 17, p.4(1885)
- (9) G.Sauerbrey：“Verwendung von Schwingquarzen zur Wagung dunner Schichten und zur Mikrowagung”，Zeitschrift fur Physik, 155, p.206(1959)
- (10) Laurent Fertier, Marc Cretin, Marc Rolland, Jean-Olivier Durand, Laurence Raehm, Remi Desmet, Oleg Melnyk, Celine Zimmermann, Corinne Dejours, Dominique Rebiere：“Love wave immunosensor for antibody recognition using an innovative semicarbazide surface functionalization”，Sensors and Actuators B140, p.616(2009)
- (11) Kai Chang, Yan Pi, Weiping Lu, Feng Wang, Feng Pan, Fake Li, Shuangrong Jia, Weiping Lu, Shaoli Deng, Jianfeng Shi, Ming Chen：“Development and validation of a novel leaky surface acoustic wave immunosensor array for label-free and high-sensitive detection of cyclosporine A in whole-blood samples”，Biosensors and Bioelectronics 54, p.151(2014)
- (12) 山之内和彦：「弾性波デバイス技術」，日本学術振興会 弾性波素子技術

- 第 150 委員会, p.9(2004)
- (13) 塩川祥子・森泉豊栄：“弾性波デバイスを用いた化学センサ”，電気学会論文誌 C, 111 巻 9 号, p.357(1991)
- (14) 山之内和彦：「弾性波デバイス技術」, 日本学術振興会 弾性波素子技術第 150 委員会, p.405(2004)
- (15) 柳谷隆彦：「圧電薄膜を用いた非侵襲的生体計測 MEMS センサの開発」, 立石科学技術振興財団 助成研究成果集(第 20 号), p.43(2011)
- (16) 塩川祥子・菊池恒男・森泉豊栄・安田力：“交差指電極を用いた液体音速測定用超音波セルについて”，信学技報 IEICE Technical Report, US84-5, p.1 (1984)
- (17) 三國聡・近藤淳・沢田直見・太田徹：“ダイレクトメタノール燃料電池用 SH-SAW メタノールセンサの開発”，信学技報 IEICE Technical Report, US2009-72, p.7 (2009-11)
- (18) Tatsuya Nagayama, Jun Kondoh, Tomoko Oonishi, Kazuya Hosokawa：“Measurement of Plasma Clotting Using Shear Horizontal Surface Acoustic Wave Sensor”，Japanese Journal of Applied Physics 52, 07HD09(2013)
- (19) K. Ogawa, T. Abe, Y. Seino, T. Torigoe, Y. Tada, K. Uesugi, H. Fukuda, K. Sawada, T. Iwasa：“Highly Sensitive Analysis of Water-Insoluble Nanoparticles and soluble Proteins in Liquid by Resonant Surface Acoustic Wave Modulation Measurement”，Abstracts on 26th International Conference on Microprocesses and Nanotechnology, 7P-7-102, Sapporo, Japan (2013-11)
- (20) Kengo Ogawa, Toshihiro Abe, Yoshinori Seino, Toshihiko Torigoe, Yoshihiro Tada, Katsuhiko Uesugi, Hisashi Fukuda, Ken Sawada, Tatsuo Iwasa：“Highly Sensitive Analysis of Glutathione and Glutathione S-transferase Reaction in Liquid Phase using Surface Acoustic Wave Biosensors”，Abstracts on 7th International Conference on Molecular Electronics and Bioelectronics, D-P13, p.231, Fukuoka, Japan (2013-3)
- (21) 小川健吾・山田真也・鳥越俊彦・澤田研・岩佐達郎・杉山史一・夢田芳広・植杉克弘・福田永：“レイリー型表面弾性波を用いた液相系センサーの動作特性”，表面科学, Vol.35, No.6, p.319 (2014)
- (22) 山之内和彦：「弾性波デバイス技術」, 日本学術振興会 弾性波素子技術

- 第 150 委員会, p.140(2004)
- (23) 日本水晶デバイス工業会：「水晶デバイスの解説と応用」, p.27(2012)
- (24) 橋本研也：「弾性表面波(SAW)デバイスシミュレーション技術入門」, 株式会社リアライズ社, p.56(1997)
- (25) Colin K. Campbell : “Surface Acoustic Wave Devices for Mobile and Wireless Communications”, ACADEMIC PRESS, p.238(1998)
- (26) 櫛引淳一：「超高品質人工水晶の超音波マイクロスペクトロスコープ」, 平成 13 年度～平成 14 年度科学研究費補助金[基盤研究(B)(2)] 研究成果報告書 13555085, (2003)
- (27) H. L. Bertoni, T. Tamir : “Unified Theory of Rayleigh-Angle Phenomena for Acoustic Beams at Liquid-Solid Interfaces”, *Appl. Phys2*, p.157-172 (1973)
- (28) 澤口明廣・戸田耕司：“漏えいラム波すだれ状トランスデューサーの動作特性と漏えい表面波測定システム”, 電気学会論文誌 C, 111 巻 9 号, p.439(1991)
- (29) OREST I. DIACHOK, WALTER G. MAYER : “Conical Reflection of Ultrasound from a Liquid-Solid Interface” , The Journal of the Acoustical Society of America, p.155 (1969)
- (30) 実吉純一・菊池喜充・熊本乙彦：「超音波技術便覧」, 日刊工業新聞社, p.1256(1966)
- (31) Vivek Sharma, Aditya Jaishankar, Ying-Chih Wang and Gareth H. McKinley : “Rheology of globular proteins: apparent yield stress, high shear viscosity and interfacial viscoelasticity of bovine serum albumin solutions”, The Royal Society of Chemistry soft matter7, p.5150 (2011)
- (32) Tomoaki Sugawara, Yasutomo Nomura, Sanae Kato, Takeya Yoshioka, Yasunori Kinoshita, Kengo Ogawa : “Fluorescence Spectroscopy in Analysis of Raw Squid Mantle”, IEEJ Transactions on Fundamentals and Materials Vol.133 No.7, p.408(2013)
- (33) 小関聡美・北上誠一・加藤登・新井健一：“魚介類の死後硬直と鮮度(K値)の変化”, 「海-自然と文化」東海大学紀要海洋学部 第4巻第2号, p.31(2006)
- (34) 食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会：“動物用医薬品評価書(案) セファゾリン”, p.6(2012)

1. 関連論文

- (1) 小川健吾, 山田真也, 鳥越俊彦, 澤田研, 岩佐達郎, 杉山史一, 冨田芳広, 植杉克弘, 福田永 : 「レイリー型表面弾性波を用いた液相系センサーの動作特性」, 表面科学, 第 35 巻第 6 号 pp.319-323(2014-6)
- (2) 小川健吾, 鳥越俊彦, 澤田研, 岩佐達郎, 永野宏治, 柴山義行, 冨田芳広, 植杉克弘, 福田永 : 「液相中への縦波放射を利用したレイリー型表面弾性波センサーの開発」, 電気学会 論文誌 E, Vol.135, No.12(2015-12)

2. 口答発表

- (1) Kengo Ogawa, Toshihiro Abe, Yoshinori Seino, Toshihiko Torigoe, Yoshihiro Tada, Katsuhiko Uesugi, Hisashi Fukuda, Ken Sawada, Tatsuo Iwasa : 「Highly Sensitive Analysis of Glutathione and Glutathione S-transferase Reaction in Liquid Phase using Surface Acoustic Wave Biosensors」, 7th International Conference on Molecular Electronics and Bioelectronics, D-P13, p.231, Fukuoka, Japan(2013-3)
- (2) K. Ogawa, T. Abe, Y. Seino, T. Torigoe, Y. Tada, K. Uesugi, H. Fukuda, K. Sawada, T. Iwasa : 「Highly Sensitive Analysis of Water-Insoluble Nanoparticles and soluble Proteins in Liquid by Resonant Surface Acoustic Wave Modulation Measurement Wave Biosensors」, 26th International Conference on Microprocesses and Nanotechnology Conference, 7P-7-102, Sapporo, Japan(2013-11)
- (3) 小川健吾, 山田真也, 菅原智明, 岩佐達郎, 冨田芳広, 福田永 : 「アデノシン三リン酸 (ATP) 水溶液におけるレイリー型 SAW 溝流路液相センサーの動作特性」, 第 76 回秋季応用物理学会学術講演会, 2015-9

3. 特許出願

- (1) 出願日 : 平成 25 年 10 月 23 日

出願番号 : 特願 2013-220407

発明の名称 : 表面弾性波センサおよび表面弾性波センサ装置

出願人 : 室蘭工業大学 / ファインクリスタル株式会社

発明者 : 福田永 / 小川健吾

謝辞

室蘭工業大学 福田 永 教授に心から感謝申し上げます。博士課程への進学および SAW センサー研究全般にわたる多大なご支援とご指導を頂きました。研究を通して私自身の至らなさを実感することが多くありましたが、成果が上がらないときも見守りくださり、じっくり研究する機会を与えて頂きました。本論文も先生の励ましによって仕上げることができました。重ねてお礼申し上げます。

室蘭工業大学 植杉 克弘 准教授に感謝申し上げます。論文作成・審査においてご教授頂き、また激励の言葉も頂き、大変勇気付けられました。

室蘭工業大学 酒井 彰 教授に感謝申し上げます。先生のご鞭撻・ご助言によって、論文全体の完成度を高めることができました。

室蘭工業大学 冨田 芳広 助教に感謝申し上げます。水晶基板に作製するアルミニウム蒸着や IDT 電極の作製方法の指導や日常の議論を通じて多くの知識や示唆を頂きました。

室蘭工業大学 佐藤 完二 客員教授に感謝申し上げます。札幌医科大学 鳥越 俊彦 准教授と数か月に一度の打ち合わせの場を作って頂きました。打ち合わせの中で、研究内容や開発の進め方についてご指導頂きました。

札幌医科大学 鳥越 俊彦 准教授に感謝申し上げます。お忙しい中、数カ月に一度の打ち合わせにご参加頂き、バイオセンサーへの応用に向けた抗原抗体反応に関する知識についてご助言を頂きました。

室蘭工業大学 岩佐 達郎 教授に感謝申し上げます。バイオセンサーへの応用に向けた抗原抗体反応に関する知識についてご助言を頂きました。また、論文作成・審査においてご教授頂き、また激励の言葉も頂き、大変勇気付けられました。

室蘭工業大学 澤田 研 准教授に感謝申し上げます。バイオセンサーへの応用に向けた抗原抗体反応に関する知識についてご助言を頂きました。

室蘭工業大学 永野 宏治 教授に感謝申し上げます。SAW 励振の基礎と応用についてご教授頂き、溝内でのレイリー波の挙動に関してご助言頂きました。

室蘭工業大学 柴山 義行 准教授に感謝申し上げます。SAW 励振の基礎と応用についてご教授頂き、溝内でのレイリー波の挙動に関してご助言頂きました。

国立高等専門学校機構 鴨田 秀一 特命教授に感謝申し上げます。札幌医科大学

学 鳥越俊彦 准教授と数か月に一度の打ち合わせの場を作って頂きました。打ち合わせの中で、研究内容や開発の進め方についてご指導頂きました。

室蘭工業大学 片石 温美 准教授に感謝申し上げます。札幌医科大学 鳥越俊彦 准教授と数か月に一度の打ち合わせの場を作って頂きました。打ち合わせの中で、研究内容や開発の進め方についてご指導頂きました。

ファインクリスタル株式会社 清野芳紀 社長に感謝申し上げます。博士課程への進学をご承認頂き、また、研究テーマに関する議論および結果の検討についてご助言頂きました。

ファインクリスタル株式会社 阿部敏広 開発部部長に感謝申し上げます。SAW 励振の基礎と応用についてご助言頂きました。成果が上がらないときも見守りくださり、じっくり研究する機会を与えて頂きました。

最後に、これまで自分の思う道を進むことに対し、温かく見守りそして辛抱強く支援してくれた妻と子供達、天国にいる両親に対して深い感謝の意を表し謝辞と致します。