

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特許公報(B2)

(11) 特許番号

特許第4864388号
(P4864388)

(45) 発行日 平成24年2月1日(2012.2.1)

(24) 登録日 平成23年11月18日(2011.11.18)

(51) Int.Cl.

F I

GO 1 N 23/223 (2006.01)

GO 1 N 23/223

GO 1 N 37/00 (2006.01)

GO 1 N 37/00 1 0 1

請求項の数 5 (全 10 頁)

<p>(21) 出願番号 特願2005-254240 (P2005-254240)</p> <p>(22) 出願日 平成17年9月2日(2005.9.2)</p> <p>(65) 公開番号 特開2007-64901 (P2007-64901A)</p> <p>(43) 公開日 平成19年3月15日(2007.3.15)</p> <p>審査請求日 平成20年8月5日(2008.8.5)</p>	<p>(73) 特許権者 503360115 独立行政法人科学技術振興機構 埼玉県川口市本町四丁目1番8号</p> <p>(73) 特許権者 502100415 マイクロ化学技研株式会社 神奈川県川崎市高津区坂戸3-2-1 神奈川サイエンスパーク東棟207</p> <p>(74) 代理人 100085464 弁理士 野口 繁雄</p> <p>(72) 発明者 辻 幸一 大阪府堺市上野芝町3-3-16-106</p> <p>(72) 発明者 北森 武彦 東京都文京区本郷2-32-2-304号</p>
---	---

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 マイクロチップ並びにそれを用いた分析方法及び装置

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

基板と、

該基板内部に形成された流路と、

該基板の平坦な表面の一部の領域からなり、前記流路の出口を含み、該出口は前記基板の平坦な表面内の開口として形成され、その開口から溢れ出た測定対象液が該基板の平坦な表面にとどまって分析試料となる分析部と、を備え、

前記分析部は1次X線を全反射条件で入射させることのできる大きさの平坦な領域を有するものであり、かつ、

前記分析部はその分析部にある分析試料から発生する蛍光X線が別途設けられたX線検出器により検出されるものである全反射蛍光X線分析用マイクロチップ。

10

【請求項2】

請求項1に記載の全反射蛍光X線分析用マイクロチップを用い、以下の工程(A)から(C)を備えた分析方法。

(A) 前記マイクロチップを使用して、前記流路から開口を経て前記分析部に測定対象液を分析試料として溢れ出させる工程、

(B) 前記分析部に溢れ出た分析試料に対し1次X線を全反射の条件で入射させる工程、及び

(C) 前記分析試料から発生する蛍光X線を検出する工程。

【請求項3】

20

前記工程 (A) と (B) の間に前記分析部の分析試料を乾燥させる工程を含む請求項 2 に記載の分析方法。

【請求項 4】

前記流路では送液、化学反応及び分離のうちの少なくとも 1 つを行なう請求項 2 又は 3 に記載の分析方法。

【請求項 5】

請求項 1 に記載の全反射蛍光 X 線分析用マイクロチップを測定媒体とするものであり、1 次 X 線を発生する X 線源と、

前記マイクロチップの前記分析部に対し前記 1 次 X 線を全反射の条件で入射させる 1 次 X 線入射調整機構と、

前記マイクロチップの前記分析部に対向して配置され、前記分析部にある分析試料から発生する蛍光 X 線を検出する X 線検出器と、

を備えたマイクロチップ分析装置。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、基板内に設けられた流路をもつマイクロチップと、それを用いて分析を行う方法と装置に関するものである。

【背景技術】

【0002】

近年、分析化学の分野では μ T A S (Micro Total Systems) の研究が盛んになりつつある。マイクロチップは、混合、化学反応、分離、抽出といった様々な化学プロセスを小型の、例えば数センチ角のチップ内に作成した微小な流路の中で行うものである。化学プロセスをマイクロサイズで行う場合、マクロサイズで行なう場合に比べて、化学反応が起きる単位体積あたりの界面積が大きいことから、化学装置の小型化、高速処理、試薬量とその廃棄量の低減、測定時間の短縮と高効率化、省エネルギー効果などが期待される。

【0003】

マイクロチップにより処理された試料溶液は、これまで可視・紫外光の吸収法やレーザー分光法などにより検出されてきた。

しかし、これらの方法は複数の元素を同時に元素定量する方法ではないため、マイクロチップにより複数元素の微量分析を行うことは困難であった。

【0004】

一方、複数元素を同時に定量する方法として、蛍光 X 線分析方法が知られている。その中でも試料に対して 1 次 X 線を全反射の条件で入射させる全反射蛍光 X 線分析方法は、試料表面又はその上の不純物からの蛍光 X 線を高感度に測定することができる。全反射蛍光 X 線分析方法は、1 次 X 線の入射角が微小であることから、反射 X 線や散乱 X 線が X 線検出器に入射しにくく、X 線検出器により検出される蛍光 X 線の出力レベルに比べて連続 X 線バックグラウンドノイズが小さく、S / B (シグナル / バックグラウンド) 比を高めることができるという利点がある (特許文献 1 参照。) 。

【特許文献 1】特開 2003 - 202306 号公報

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【0005】

しかし、全反射蛍光 X 線分析方法は平坦な固体表面で 1 次 X 線を全反射させるものであるため、マイクロ流路中を流れる試料に全反射条件を満たすような微小な入射角度で X 線を照射することはできず、マイクロチップでの検出において全反射蛍光 X 線分析方法を用いるという発想自体がこれまでなされていなかった。

そこで本発明は、複数元素を同時に高感度に分析する方法として、マイクロチップを用いた分析方法と装置を提供することを目的とするものである。

【課題を解決するための手段】

10

20

30

40

50

【 0 0 0 6 】

本発明のマイクロチップは、基板と、この基板内部に形成された流路と、この基板の平坦な表面の一部からなり、前記流路の出口が開口として形成され、その開口から溢れ出た測定対象液が該基板の平坦な表面にとどまって分析試料となる分析部とを備えている。

前記分析部の好ましい一例は、全反射の条件で1次X線が入射され、その分析部にある分析試料から発生する蛍光X線が別途設けられたX線検出器により検出されるものである。

【 0 0 0 7 】

本発明の分析方法は、このマイクロチップを用い、以下の工程(A)から(C)を備えている。

(A) このマイクロチップを使用して、前記流路から開口を経て前記分析部に測定対象液を分析試料として溢れ出させる工程、

(B) 前記分析部に溢れ出た分析試料に対し1次X線を全反射の条件で入射させる工程、及び

(C) 前記分析試料から発生する蛍光X線を検出する工程。

【 0 0 0 8 】

分析試料が水溶液である場合、水はX線を吸収することから、X線が液体試料に吸収されるとS/B比が小さくなってしまふので、工程(A)と(B)の間に分析部の分析試料を乾燥させる工程を含むことが好ましい。

前記流路は、例えば送液、化学反応又は分離を行なうものである。

【 0 0 0 9 】

本発明のマイクロチップ分析装置は、このマイクロチップを測定媒体とするものであり、1次X線を発生するX線源と、このマイクロチップの分析部に対し1次X線を全反射の条件で入射させる1次X線入射調整機構と、このマイクロチップの分析部に対向して配置され、その分析部にある分析試料から発生する蛍光X線を検出するX線検出器とを備えている。

【 発明の効果 】

【 0 0 1 0 】

これまでマイクロチップを用いて分析において複数元素を同時に検出するものはなかったが、本発明のマイクロチップを用いた分析方法によると、検出に全反射蛍光X線分析方法を適用することができることから、複数の元素を非破壊的に、しかも大気圧下で、高感度に同時に分析できるようになる。

【 0 0 1 1 】

分析部の分析試料を乾燥させるようにすると、蛍光X線のS/B比が向上し、測定感度が向上する。

また、全反射蛍光X線測定装置は小型化が可能であり、元々小型であるマイクロチップとの相性もよいことから、全体として携帯可能な分析システムの構築ができるようになる。

【 発明を実施するための最良の形態 】

【 0 0 1 2 】

以下に本発明の一実施例を説明する。

図1はマイクロチップの一実施例であり、(A)は斜視図、(B)は液入口9aから液出口9cに至る流路に沿った断面図、(C)は上面図、(D)はマイクロ流路の断面図の一例である。

【 0 0 1 3 】

マイクロチップ1は、基板30と、基板30の内部に形成された流路23と、基板30の平坦な表面の一部からなり、流路23の出口が開口9cとして形成され、その開口9cから溢れ出た測定対象液が基板30の平坦な表面にとどまって分析試料となる分析部10とを備えている。

【 0 0 1 4 】

10

20

30

40

50

基板 30 は 2 枚の平坦な基板 30 a , 30 b を張り合わせたものである。一方の基板 30 a に流路となる溝 23 が形成され、溝 23 を覆うように他方の基板 30 b が張り合わされている。基板 30 b には流路 23 の端部の位置に貫通穴 9 a ~ 9 c があけられている。基板 30 a , 30 b が張り合わされてマイクロチップ 1 となったとき、穴 9 a ~ 9 c は基板 30 b の平坦な表面に開口となって現れる。穴 9 a , 9 b は反応液などの液入口、穴 9 c は液出口である。

【 0015】

マイクロチップ 1 の大きさは、例えば、縦 $x = 70 \text{ mm}$ 、横 $y = 30 \text{ mm}$ 、基板 30 a , 30 b の厚さはそれぞれ 0.7 mm である。流路 23 の断面 36 は、例えば、深さ $a = 40 \mu\text{m}$ 、幅 $b = 100 \mu\text{m}$ である。貫通穴 9 a と 9 b の内径は 0.5 mm 、貫通穴 9 c の内径は 0.2 mm である。しかし、本発明のマイクロチップや流路の形状や大きさは上記のものに限定されるものではない。

10

【 0016】

図 2 はこのマイクロチップを用いた分析装置の概略正面図である。

13 はマイクロチップ 1 を載置する試料台である。試料台 13 に載置されたマイクロチップ 1 の表面の分析部に対し 1 次 X 線を、全反射を起こす入射角で入射させる 1 次 X 線照射部 2 が設けられている。1 次 X 線照射部 2 は X 線を発生する X 線源 3、その X 線を単色化するための多層膜基板 5、及び単色化された X 線のみを試料に照射するためのスリット 7 a , 7 b を備えている。

マイクロチップ 1 の分析部の試料から発生する蛍光 X 線を検出するために、試料台 13 に載置されたマイクロチップ 1 の分析部に対向して X 線検出器 11 が配置されている。

20

【 0017】

試料台 13 は調整機構 13 a , 13 b を備えており、調整機構 13 a , 13 b により試料台 13 上に載置されたマイクロチップ 1 の表面の高さ方向 (Z 方向) 及び入射 X 線に対するそのマイクロチップ 1 の表面の傾き方向 () を調整することができる。調整機構 13 a , 13 b は、高さ方向の調整を行なうステッピングモータ 13 a と、ステッピングモータ 13 a の下に配置され、マイクロチップ 1 の表面の傾きを入射 X 線に対して調整する傾斜モータ 13 b とを含んでいる。

【 0018】

X 線源 3 としては市販の X 線管を用い、X 線源 3 の X 線出射窓にはベリリウム、窒化ホウ素、グラファイトなどの X 線透過材料が用いられている。X 線源 3 の X 線出射窓と多層膜基板 5 の間には、管球由来の X 線が蛍光 X 線測定に影響を与えるのを防ぐために、ジルコニウム、アルミニウム、真鍮など、測定対象元素に応じて適当なフィルタが設けられることがある。

30

ここでは、X 線源 3 として、モリブデンをターゲットとし、ベリリウム X 線出射窓をもつ X 線管を使用し、X 線源 3 の X 線出射窓と多層膜基板 5 との間にジルコニウムフィルタを配置した。

【 0019】

X 線検出器 11 には波長分散型分光器を備えたものとエネルギー分散型 X 線分光器を備えたものがある。波長分散型分光器は湾曲型の結晶の回折現象を用いる。エネルギー分散型 X 線分光器は試料から発生する全ての X 線を検出器に同時に取り込み、X 線のエネルギー選別を電気的に行うものである。エネルギー分散型 X 線分光器は波長分散型分光器に比べてエネルギー分解能が劣るものの測定時間が短くてすみ、全エネルギー範囲を同時に測定することができるという利点をもっている。それに対して波長分散型分光器は、エネルギー分散型 X 線分光器よりも測定時間が長くなる反面、エネルギー分解能が優れているという利点をもっている。元素分析では、これらの分解能の異なる 2 種類の分光器のいずれを使用してもよく、併用することもできる。ここでは、測定時間を短くするためにエネルギー分散型 X 線分光器を用いる。

40

【 0020】

マイクロチップ 1 の分析部 10 に溢れ出した液体試料が水溶液である場合には、水によ

50

るX線の吸収を避けるために乾燥・濃縮させて固形試料にするのが好ましい。乾燥は自然乾燥によってもよいが、加熱して強制的に乾燥させる方が短時間ですむ。そのために、試料台13に加熱機構を設けておいてもよい。

【0021】

次に、マイクロチップ1の製造方法の一例を示す。

基板30a, 30bとして石英ガラス基板を使用する。まず、一方のガラス基板30aにフォトレジストを塗布してプリベークし、フォトマスクを介してフォトレジストをUV(紫外)光で露光する。その後、フォトレジストを現像してパターンニングし、ポストベークした後、フォトレジストパターンをマスクとして基板30aをエッチングして流路23となる溝を形成する。その後、フォトレジストを除去する。エッチングはドライエッチングでもウエットエッチングでもよいが、例えばフッ酸水溶液をエッチング液としてウエットエッチングを行う。

10

【0022】

他方の基板30bには貫通穴9a~9cをサンドブラスト法などにより開ける。

そのように、流路溝23と貫通穴9a~9cが形成された2枚の基板30a, 30bを、基板30aの溝23が形成されている面に基板30bを重ね合わせ、加熱と加圧により液密に接合する。

【0023】

基板の素材としては石英ガラス基板の他、他のガラス基板やシリコン基板、樹脂基板を用いることもできる。いずれの場合も化学的もしくは機械的な手段により、又はレーザー照射やイオンエッチング等の各種の手段によって流路となる溝と貫通穴を形成することができる。

20

【0024】

本実施例では石英ガラス製のマイクロチップを作製したが、石英ガラスは本来疎水性であるので、水溶液試料を扱いやすくするために、2枚の基板を接合する前に、流路の表面が親水性になるような化学処理を施すのが好ましい。

【0025】

親水処理の一例を以下に工程順に示す。

- (1) 不純物金属成分を溶解させて除去するために塩酸に浸す。
- (2) 水洗する。
- (3) 水性溶媒と有機溶媒をつなぐためにエタノールに浸す。
- (4) 有機物を除去するためにアセトンに浸す。
- (5) 再び水性溶媒と有機溶媒をつなぐためにエタノールに浸す。
- (6) 水洗する。
- (7) 表面にOH基を修飾するためにNaOH溶液に30分間程度浸す。
- (8) 水洗してNaOHを洗い流す。

30

このような処理を経ることにより、マイクロチップ1に形成される流路が親水性になる。

【0026】

次に本実施例の動作を説明する。

40

図3はマイクロチップ1に試料溶液を注入して分析するときの実験操作の概略図である。マイクロシリンジ21を用いて反応液をマイクロチップ1の液入口9aに注入する。同様に液入口9bには他方の反応液を注入する。

両反応液は流路23中で反応し、流路23から液出口9cを経て基板30b上の分析部に溢れだして広がる。

【0027】

図4は流れ出した溶液が液出口9cの周囲に広がった状態を示した画像であり、符合25で示されたほぼ円形の領域が分析部に広がった溶液である。

この溶液試料の溶媒を乾燥させて除去し、その後、1次X線を全反射条件で照射することによって全反射蛍光X線分析法により試料の元素分析を行う。

50

【0028】

図5に、この実施例のマイクロチップを用いて測定した蛍光X線スペクトルの一例を示す。この場合、流路23は反応には使用せず、単に試料溶液の流通にのみ使用した。そのため、一方の液入口9bは閉じた状態で使用した。試料溶液としてZn標準溶液(1.017mg/mL)を測定した。その試料溶液の0.08mLをシリンジ21により流速0.2mL/hで液入口9aから供給し、液出口9cの周囲の分析部に溢れ出させて展開させた。その展開された試料溶液を乾燥させた後、全反射蛍光X線分析を行った。

【0029】

測定には、X線源3のモーターゲットを30keV、20mAで動作させ、蛍光X線はエネルギー分散型検出器で60秒間検出した。

図5の蛍光X線スペクトルで、横軸はエネルギー、縦軸は蛍光X線強度(カウント/秒)である。エネルギー1~20keVの範囲の蛍光X線スペクトルのうち、10~15keVの枠で囲まれた部分を右上に拡大して示している。1.8keV付近にあるピークはマイクロチップの基板である石英ガラス中のSiから発生した蛍光X線、8.5keVと9.5keV付近のピークはZn標準試料中のZnから発生した蛍光X線、10.5keV付近にあるピークはPbから発生した蛍光X線であり、X線の遮蔽に利用している鉛板が発生源と考えられる。17.4keV付近のピークは励起X線であるMoKa線である。

この結果から、シグナル全体としてノイズが小さく、本発明のマイクロチップを用いた分析方法はS/B比が良いことが観測された。

【0030】

図6はZnイオンの濃度を0~1000ppmの範囲で4種類に変化させて調製したZn標準試料についてのZn濃度(ppm)とZnK線の蛍光X線スペクトルピークの強度(60秒間の計数値の積分値を蛍光X線強度とした。)との関係を示したものである。重相関係数 R^2 が0.9959となって、良好な直線性を示しており、このデータが未知試料の濃度を測定する際の検量線となりうることを示している。

【0031】

図7は、複数成分の同時検出が可能であることを示すために、Fe、Cu及びZnを含む試料溶液を上記のマイクロチップを用いて図5に示した蛍光X線スペクトルを測定したのと同じ条件で測定したときの蛍光X線スペクトルである。横軸はエネルギー、縦軸は検出X線強度(カウント/秒)である。試料溶液はFeが330ppm、Cuが500ppm、Znが167ppmで、組成比はFe:Cu:Zn=2:3:1である。

【0032】

エネルギー1~20keVの範囲の全蛍光X線スペクトルのうち、6~11keVの枠で囲まれた部分を右上に拡大して示している。6.5keV付近にあるピークはFeの蛍光X線、8keV付近にあるピークはCuの蛍光X線、9keV付近にあるピークはZnの蛍光X線である。

これらのピークは互いに明瞭に分離されていることから、複数の元素を同時に定量できることが確認された。

【0033】

本発明は上記の記載の実施例のみに限定されるものではなく、請求項に記載の範囲内において実施可能である。例えば、上記の実施例では1次X線の入射角を調整する調整機構としてステップモータ13a及び傾斜モータ13bを用いたが、X線照射部2を調整することによってマイクロチップ上で1次X線が全反射条件を満たすように調整してもよく、X線照射部2とステップモータ13a及び傾斜モータ13bの両方によってマイクロチップ上で1次X線が全反射条件を満たすように調整してもよい。

【産業上の利用可能性】

【0034】

本発明は、マイクロチップを用いて微量の溶液の反応や分離などを扱い、その結果を検出する機器分析装置に利用することができる。

10

20

30

40

50

【図面の簡単な説明】

【0035】

【図1】マイクロチップの一実施例を示す図であり、(A)は斜視図、(B)は(A)の液入口9aから液出口9bに至る流路に沿った断面図、(C)は上面図、(D)はマイクロ流路の断面図である。

【図2】分析装置の一実施例を示す概略正面図である。

【図3】マイクロチップに試料溶液を注入して分析するときの実験操作の概略斜視図である。

【図4】分析部に流れ出した試料用液が展開された状態を示す画像である。

【図5】Zn標準試料を測定したときの蛍光X線スペクトルである。

10

【図6】標準試料についての蛍光X線スペクトルピーク強度と濃度との関係を示すグラフである。

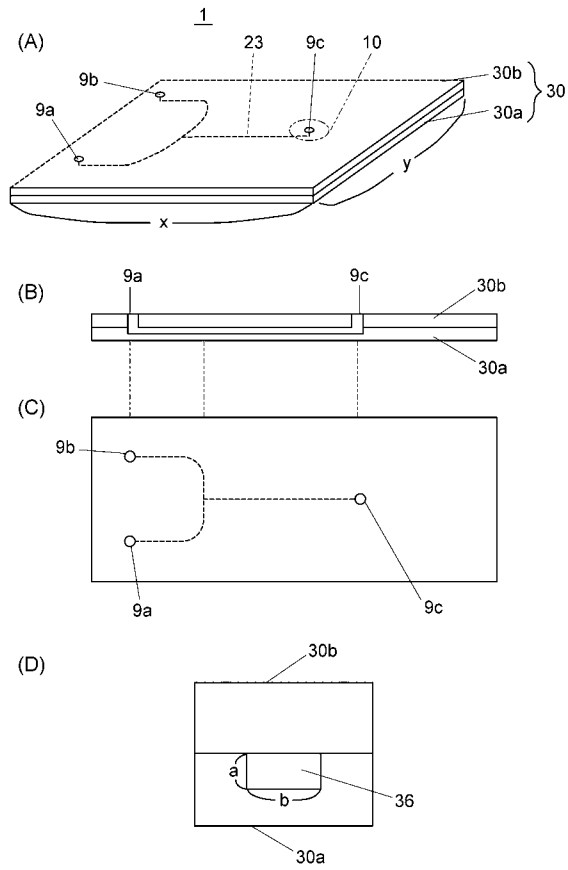
【図7】Fe、Cu及びZnを含む試料溶液を測定したときの蛍光X線スペクトルである。

【符号の説明】

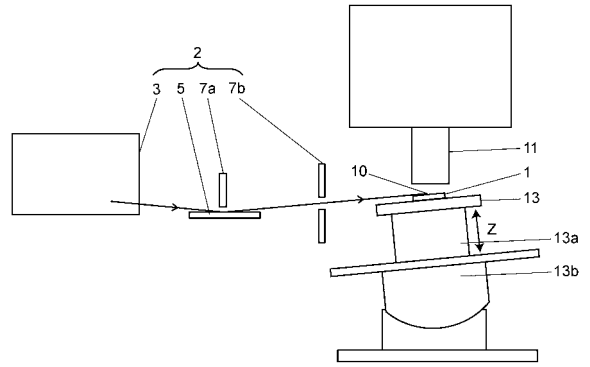
【0036】

1	マイクロチップ	
2	X線照射部	
3	X線源	
5	反射板	20
7a, 7b	スリット	
9a, 9b,	液入口	
9c	液出口	
10	分析部	
11	検出器	
13	試料台	
13a	ステッピングモータ	
13b	傾斜モータ	
21	マイクロシリンジ	
23	流路	30
30a, 30b	基板	
36	流路断面	

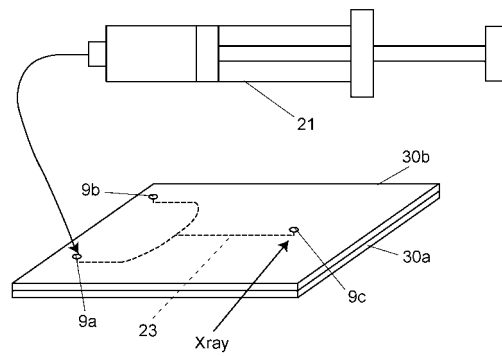
【 図 1 】



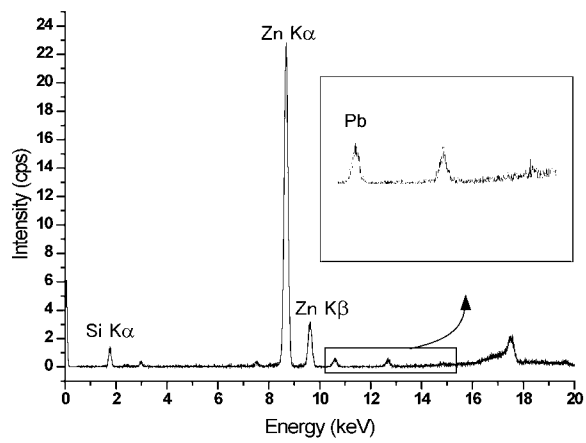
【 図 2 】



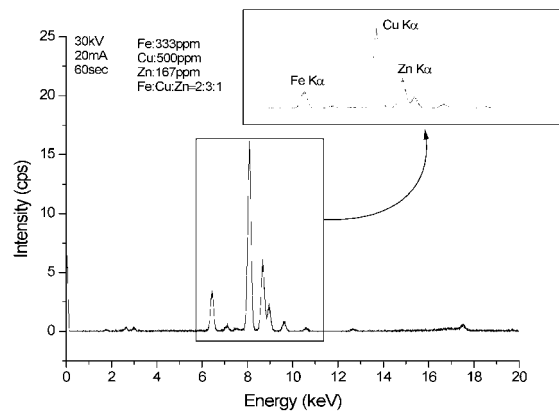
【 図 3 】



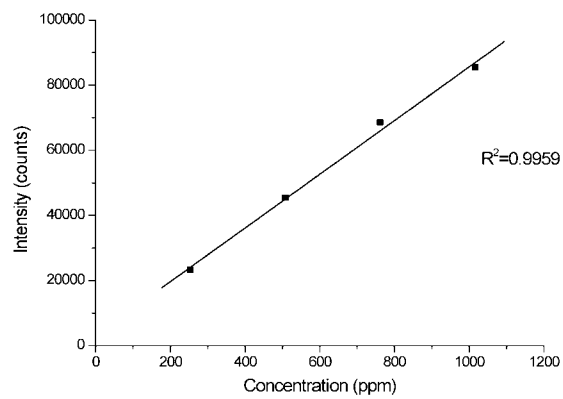
【 図 5 】



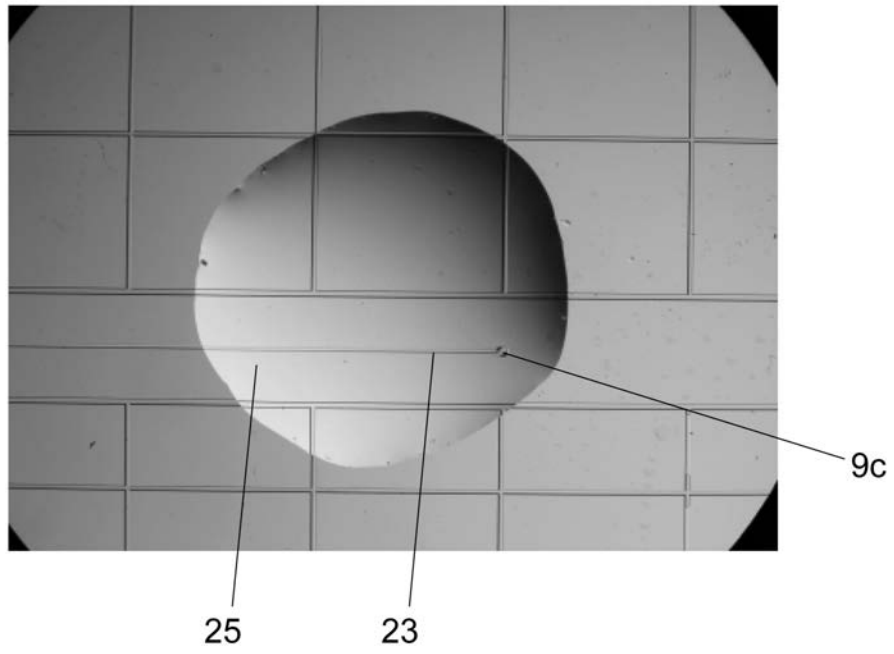
【 図 7 】



【 図 6 】



【 図 4 】



フロントページの続き

(72)発明者 渡慶次 学

神奈川県川崎市高津区板戸 2 - 1 5 - 3 - 3 0 4

審査官 高橋 亨

(56)参考文献 国際公開第 2 0 0 4 / 0 5 1 2 3 4 (W O , A 1)

特開 2 0 0 2 - 0 2 2 6 8 4 (J P , A)

特開平 0 7 - 2 2 9 8 6 2 (J P , A)

Kouichi Tsuji, Tetsuya Emoto, Yosuke Nishida, Eiichiro Tamaki, Yoshikuni Kikutani, Akihide Hibara, T, Grazing-Exit and Micro X-ray Fluorescence Analyses for Chemical Microchips, ANALYTICAL SCIENCES, 日本, The Japan Society for Analytical Chemistry, 2 0 0 5 年 7 月 1 0 日, VOL.21, p.799-p.803

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

J S T P l u s (J D r e a m I I)