様式Ｃ－１９

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成２４年　５月１５日現在

機関番号：２７１０１
研究種目：基盤研究（C）
研究期間：2009～2011
課題番号：２１５１００２０
研究課題名（和文）　ハニカム膜フィルタによる空気中浮遊微生物センシング技術の開発

研究課題名（英文）　Development of airborne microorganism sensing technology by honeycomb film filter
研究代表者
野上　敦嗣　（NOGAMI ATSUSHI）
北九州市立大学・国際環境工学部・教授
研究者番号：70347665

研究成果の概要（和文）：フォトリソグラフィ法を用いて孔径 1μm で完全なハニカム配列を有する Si ハニカムフィルタを開発した。フィルタは全面が平坦で撓みもないため、微生物をフィルタ全域に偏りなく捕集でき、光学顕微鏡観察では視野全体で焦点合わせが可能である。また、開孔率が大きいため透過光観察も可能で、捕集した活性細菌がフィルタ上を動き回る様子のビデオ観察にも成功した。

研究成果の概要（英文）：A Si complete-honeycomb pore filter with 1 μm pore size have been developed by using a photolithography method. Because of completely flat and no deflection surface of the filter, microorganisms can be collected evenly throughout the filter and optical microscope focusing is possible in the entire field of view. A large aperture ratio of the Si honeycomb filter enables optical microscope observation with the transmitted light, so that it was succeeded to shoot high resolution video how captured active bacteria move around on the filter.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合　計
2009 年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2010 年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2011 年度	1,200,000	360,000	1,560,000
年度			
年度			
総　計	3,600,000	1,080,000	4,680,000

研究分野：複合新領域
科研費の分科・細目：環境学、環境動態解析
キーワード：環境計測、バイオエアロゾル

１．研究開始当初の背景

空気中浮遊微生物の分析法は、従来から用いられている培養法や最近の DND 染色法にしてもバッチ式分析法が主流であり、微生物を含む浮遊粒子状物資であるバイオエアロゾルを一旦フィルタ内に凝集捕集してから、実験室でフィルタから微生物を分離抽出して機器分析を行う工程が必要である。全工程では数日近い時間と人手が必要なため、即時モニタリングは困難で、捕集箇所も限られる。究極的には捕集場所でのその場分析が望ましいが、現在、バイオエアロゾル捕集に用いられているフィルタ（例えば 0.8□m 孔径ニトロセルロース混合メンブレンフィルタ）はポスト分析を前提としており、フィルタに捕捉した微粒子をフィルタまま分析するには不向きである。

微粒子の個別観察には、均一な細孔を有す

る Nuclepore フィルタが用いられている。ポリカーボネイト製の薄膜で平坦な表面をしており、フィルタ上に捕集した粒子を直ちに顕微鏡観察することが可能である。細孔は孔径が均一な円筒形構造であるが，数密度は一定ではなく孔の融合も多く、粒子選択性には劣る。体積空隙率は 5-20%程度で圧力損失も大きいため、携帯サンプラでの大容量吸気は困難である。

本研究グループでは、均一孔が規則配列したポリマーハニカム膜に着目して、微粒子フィルタへの応用研究を進めた。ポリマーハニカム膜フィルタは開孔率が大きくしたがって吸引速度の低下が小さいため電池式小型ポンプでの使用にも適するが 1)、細孔の下限は 3μm であり細菌等のミクロンレベルの微粒子分析には大き過ぎる。

1μm 以下の細孔を実現するため、フォトリソグラフィ法による Si ウエハを素材としたハニカムフィルタとそれを用いたセンシングシステムの開発を行う。

２．研究の目的

(1) 特定の大きさのバイオエアロゾル粒子を個別捕捉できるハニカム膜フィルタの開発：フォトリソグラフィ法の製造条件を最適化して、貫通孔径の細孔化を図り、孔径 1μm 以下の Si ハニカム膜の作成を行う。自立可能な強度を有するフィルタ構造を確定し量産化を行う。

(2) フィルタ上に捕捉した微生物のその場観察を可能にする光学的センシング法の開発：レーザー変位計技術を中心に、ハニカム膜フィルタ上に個別捕集した微生物の形状検知方法、ビデオ映像の画像処理による活動細菌の自動認識技術の開発を行う。

(3) センシング情報を遠隔で入手できる無線ネットワークシステムの構築：現場設置した微生物センサからのセンシング情報のワイヤレス通信方法および将来的にセンサを空間各所に多数配置した場合のセンサ組込み型の無線ネットワーク技術の開発を行う。

３．研究の方法

(1) Si ハニカム膜フィルタの開発

①孔径 1μm の Si ハニカム膜の作成：Si 薄膜の機械的強度と貫通孔加工の歩留まりがトレードオフになるため、膜厚設定が最も重要となる。試作に成功した 2μmSi ハニカム膜のフォトリソグラフィ法製造条件をリファインして、貫通孔径の細孔化を図り、孔径 1μm の Si ハニカム膜の作成を行う。

②現場試験による 1μm 以上の真菌、細菌への適用性評価：一般のオフィスビルの各所にてフィールド試験を実施し屋内浮遊微生物の種類や個数密度を把握し、Si ハニカム膜の微生物捕集能および粒子選択性を評価する。捕集条件の最適化も図る。

(2) ハニカム膜フィルタに捕捉した微粒子形状の光学的センシング法の開発

①活性細菌の動き観察システムの構築：捕集した微粒子群の中から動きの伴う活性細菌を判別するため光学顕微鏡ベースの動画観察システムもしくはデジタル高解像度コマ撮りシステムを試作評価し、最適な動き観察システムを構築する。コマ撮り画像を処理して、活性細菌の動き検出を行う。

②レーザーによる捕捉微粒子の３D 形状測定：可搬性および将来の組込み性を考慮し、走査型レーザー変位計を応用して微粒子の３次元測定を実施する。特に青色レーザー等の低波長レーザーを用いて x-y 方向高分解能測定を試みる。

(3) センシング情報を遠隔で入手できる無線ネットワークシステムの構築

① センシング情報のワイヤレス通信方法の検討評価：亀裂センサ・腐食センサで用いた RFID 無線技術だけでなく、アクティブ型長距離無線通信技術（特に、Zigbee）を含めて、組込み可能な無線通信技術の適用性評価を行う。

② センサ組込み型の無線ネットワーク技術の開発：無線通信モジュールの組込み試作を行ない、センサネットワーク構築に向けたシステム化技術の基盤を構築する。

４．研究成果

(1) Si ハニカム膜フィルタの開発

①孔径 1μm の Si ハニカム膜の作成

フォトリソグラフィ法により孔径パターン 1.0μm および 1.5μm Si ハニカム膜フィルタを作製・評価した。機械的強度を調べるためフィルタ部の膜厚は 3μm、 5μm の２種類とした。いずれの膜厚でも 1μm 径の貫通孔の製作に成功した。ハニカム膜フィルタ部は 6㎜φで開孔面積の比率は 70%に達する。フィルタ部と支持体を一体成形することで構造強度を担保した。10L/min まで吸気速度を高めると膜厚 3μm では破損することがあった

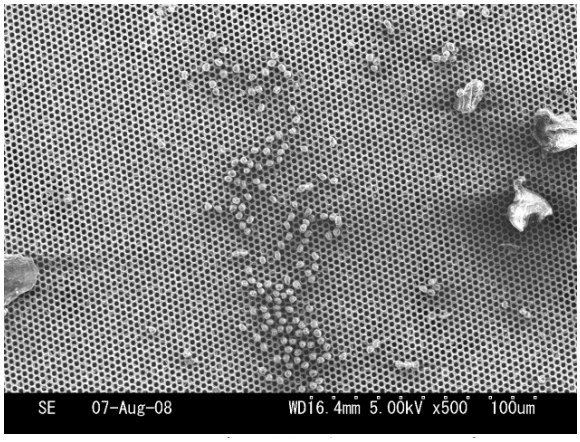

図１　Si ハニカムフィルタで捕集した浮遊粒子

ハニカム膜と違い完全なハニカム配列孔を有し、表面は全面に亘って平坦で撓むことがないため、微粒子捕捉場所の偏りがなく、被写体深度の浅い光学顕微鏡でも広視野で焦点を合わせることができる。Si フィルタは他に支持体を必要とせず単独で使用できるので圧損が小さく、吸気速度の低下は 10%と、ポリマーハニカム膜の半分である。導電性を有するので、蒸着処理せずにそのまま SEM 分析ができた（図１）。

細孔のアスペクト比が５と大きいため、穴あけ加工が困難で良品歩留まりが当初は 6%（48 個中３個）と非常に低かった。製造条件の見直し、パターニングも工夫することにより、35%（48 個中 17 個）まで向上でき量産の目処を得ることができた。RIE 加工の際に Si の表面の開孔径が 1.5μm まで拡大してしまう問題があったが、裏面を捕集面にすれば同じフィルタでも開孔径が 1.2μm 程度となり、孔径微細化への大きな進展となった。

②現場試験による 1μm 以上の真菌、細菌への適用性評価

バイオエアロゾルのフィールド捕集実験をオフィスビルで実施し、微小すぎてポリマーハニカム膜では捕捉困難であった大きさ 2μm の真菌胞子の捕集に成功した。Si ハニカム膜フィルタは開孔面積率が大きいため透過光による細菌類の光学顕微鏡も容易であった。Si ハニカムフィルタ裏面は周囲の支持部より凹んでいるが、ここに培養液を滴下して透過光観察することで活性細菌が動き回る様子がビデオ観察できた。このまま放置すれば菌を培養することもでき、バイオエアロゾル分析への Si ハニカムフィルタの高い実用性が実証できた（図２）。

クリーンルーム工場のフィールド試験では、捕集微粒子はフィルタ全面に均等に分布し、光学顕微鏡の広視野観察では全域でピントを合わせることが可能で大量の微粒子の計測や分析が容易であった。SEM 解析でも蒸着処理なしで個々の微粒子を迅速に分析できることが確認できた。

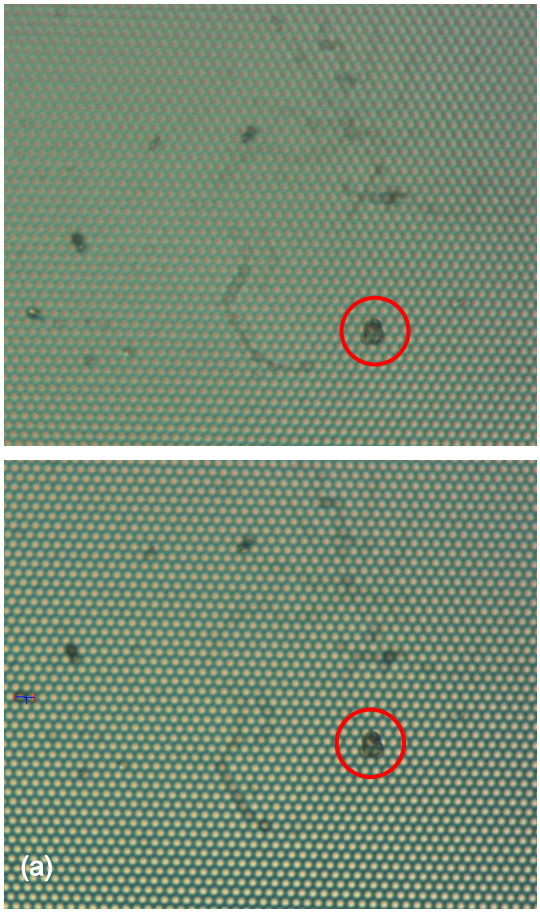

図２　Si ハニカムフィルタに捕集した活性細菌
(b)は(a)の５秒後の画面

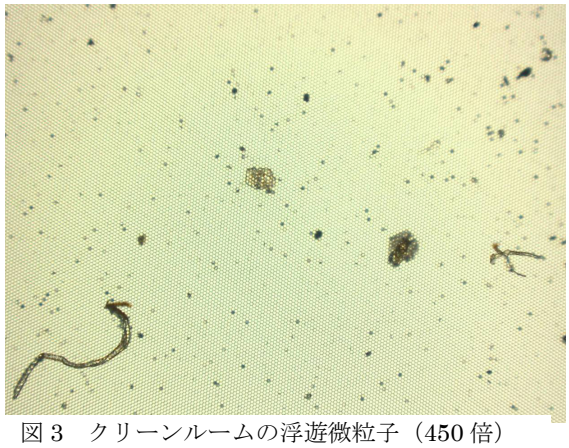

図３　クリーンルームの浮遊微粒子（450 倍）

(2)ハニカム膜フィルタに捕捉した微粒子形状の光学的センシング法の開発

①活性細菌の動き観察システムの構築

活性細菌を判別するため光学顕微鏡でのハイビジョン動画撮影システムを構築し、活性細菌の活動のデジタル動画撮影に成功した。また、動体検出アルゴリズムを適用することで、活性細菌の自動抽出に成功した。

②レーザーによる捕捉微粒子の３D 形状測定

走査型レーザー変位計で利用可能なレーザーで最小波長の青色レーザーを用いて x-y 方向 0.5μm ピッチで高さ計測を行った。計測データに画像処理を施すことで３次元形状像の取得には成功したものの、大きさが数ミクロン粒子の全体形状が判別できる程度であった（図４）。解像度向上が大きな課題となった。

③Si ハニカムフィルタ捕集微粒子の自動画像計測

Si ハニカムフィルタが正確なハニカム配列を有することを利用して FFT 変換の応用を試みた。Si ハニカムフィルタの FFT 像は正６角形のスポットになり、このスポット点を消して逆 FFT を行えばハニカム孔が消去でき粒子数や粒径の画像計測が可能であることが確認できた。

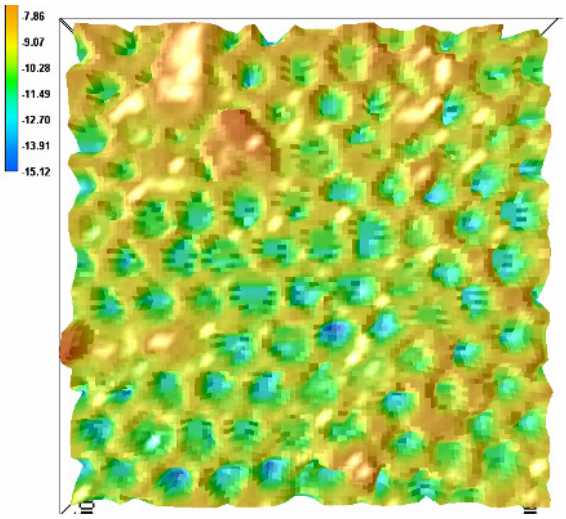

図 4　レーザー変位計による 3D 形状計測像

(3) センシング情報を遠隔で入手できる無線ネットワークシステムの構築

① センシング情報のワイヤレス通信方法の検討評価

アクティブ型長無線通信規格 Zigbee の適用性評価を行った。センサを複数個、配してセンサの位置情報と計測情報をリレーできるセンサネットワークが簡単に構築できることを確認した。

② センサ組込み型の無線ネットワーク技術の開発

Zigbee の距離 vs 信号レベルの評価実験を行い 70m までの長距離通信が可能であること、信号レベルは電波の減衰理論曲線と一致しており信号レベルから距離を一定精度で推算できることが確認できた。

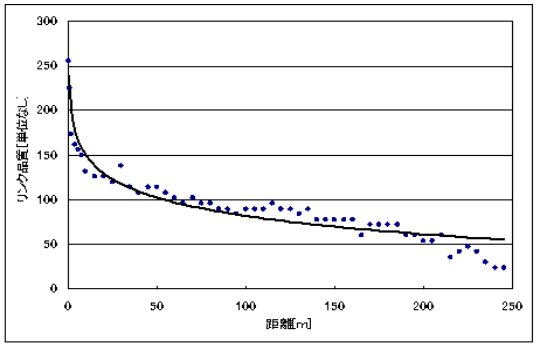

図 5　Zigbee の通信強度の減衰曲線

５．主な発表論文等

（研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線）

〔雑誌論文〕（計０件）

〔学会発表〕（計２件）

①野上敦嗣、澤泰久、野北　寛太、ハニカム膜フィルタによる海塩粒子等大気中微粒子の個別分析、腐食防食協会第 57 回材料と環境討論会、2010 年 10 月 21 日、沖縄県那覇市

②野上敦嗣、八反田拓己、山本正弘、鋼構造物保全管理への無線センサシステムの適用、腐食防食協会第 56 回材料と環境討論会、2009 年 9 月 28 日、大阪府堺市

〔図書〕（計１件）

①野上敦嗣、他、丸善、現代界面コロイド科学の事典、2010、136-137

〔産業財産権〕

○出願状況（計１件）

名称：貫通孔規則配列フィルタ及びその製造方法
発明者：野上敦嗣、澤　泰久
権利者：北九州産業学術推進機構
種類：特許
番号：特願 2010-224274
出願年月日：2010 年 10 月 1 日
国内外の別：国内

○取得状況（計３件）

名称：腐食量測定センサ
発明者：野上敦嗣、松岡和己、他 4 名
権利者：北九州産業学術推進機構・新日本製鐵・吉川工業
種類：特許
番号：特許第４８９５８８６号
取得年月日：2012 年 1 月 6 日
国内外の別：国内

名称：腐食速度用センサ、装置、及び、腐食速度測定方法
発明者：野上敦嗣、松岡和己、他 3 名
権利者：北九州産業学術推進機構・新日本製鐵・吉川工業
種類：特許
番号：特許第４８８６５７７号
取得年月日：2011 年 11 月 25 日
国内外の別：国内

名称：浮遊微粒子捕集装置
発明者：野上敦嗣、澤　泰久
権利者：北九州産業学術推進機構
種類：特許
番号：特許第４８６８５１２号
取得年月日：2011 年 12 月 26 日
国内外の別：国内

〔その他〕

ホームページ等
http://www.kitakyu-u.ac.jp/env/subject/d-life/Atsushi_Nogami/index.html

６．研究組織

(1)研究代表者

野上　敦嗣（NOGAMI　ATSUSHI）
北九州市立大学・国際環境工学部・教授
研究者番号：70347665

(2)研究分担者

なし

(3)連携研究者

なし