

# 半導体化学センサを用いたイオン分布のイメージング

吉信 達夫

工学研究科 電子工学専攻 電子システム工学講座  
生体電子工学分野 教授  
E-mail: nov@ecei.tohoku.ac.jp



## 1. はじめに

試料中の化学物質の可視化には蛍光等の標識が用いられることが多いが、アプリケーションによっては標識の毒性が問題となることがある。本研究では標識フリーな測定方法のひとつとして、半導体デバイスを用いた化学センサによるイオンイメージングの手法を開発している。

半導体デバイスを用いた化学センサは、小型化や集積化に有利であり、また微細加工技術を用いてさまざまな表面構造を作製することができるという利点がある。半導体化学センサとしては、電界効果構造 (Electrolyte-Insulator-Semiconductor; EIS 構造とも呼ばれる) を用いたイオン感応性電界効果トランジスタ (Ion-Sensitive Field Effect Transistor; ISFET) [1,2] が最もよく知られており、携帯型の pH メータなどとして実用化されている。EIS 構造を有する半導体化学センサにはこのほか、EIS 容量センサ [3] や Light-Addressable Potentiometric Sensor (LAPS) [4] などがある。これらのセンサの模式図を図 1 に示す。

EIS 構造を有する化学センサにおいては、センサ面と接する溶液中のイオン濃度に応じて半導体中に生じる電荷分布の変化を検出する。すなわち ISFET においては、チャンネルのコンダクタンスの変化、EIS 容量センサや LAPS においては、半導体-絶縁層界面の空乏層容量の変化を検出する。半

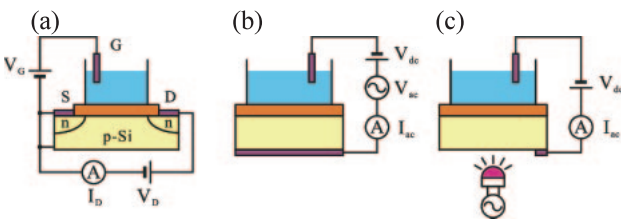


図 1. Structures of (a) ISFET, (b) EIS capacitive sensor and (c) LAPS.

導体層が p 型の場合、センサ表面の電荷が正であるほど空乏層幅が大きくなり、空乏層容量は小さくなる。

LAPS においては、この空乏層容量の変化を検出するために光電流を利用する。すなわち、センサ基板の裏面から数 kHz 程度の周波数で変調された光を照射し、外部回路を流れる交流光電流の振幅を測定すると、EIS 系に印加されるバイアス電圧に対して図 2(a) のように変化する。図 2(a) において右側 (半導体基板に対して溶液を正にバイアスした場合) が空乏・反転状態、左側が蓄積状態である。この例では pH に対して感度を有する Ta<sub>2</sub>O<sub>5</sub> 膜を絶縁層に用いており、電流電圧曲線の変曲点の電圧を pH に対してプロットすると、pH 感度の値 57.9 mV/pH が得られた。

LAPS の測定領域はセンサ面全体ではなく、光照射領域によって定義されるため、1 枚のセンサ基板上に多数の測定点を設けることが可能である。

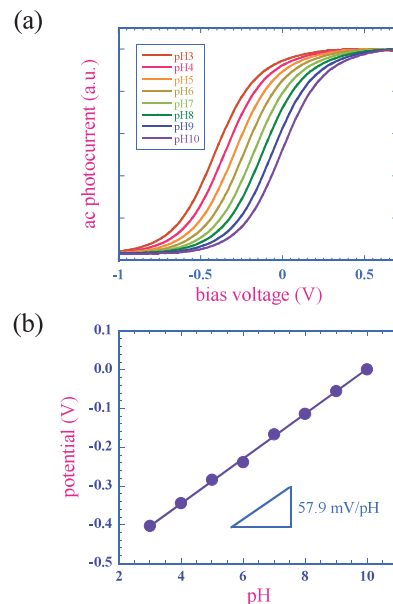


図 2. (a) Current-voltage characteristics and (b) pH sensitivity of LAPS.

また、センサ表面を修飾することによって、特定のイオンや分子に対して選択的感度を有するセンサを作製することができる。図3は  $\text{Li}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Cs}^+$  などのアルカリ金属イオンや,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$  などのアルカリ土類金属イオンに対して、各々対応するイオノフォアを含有する PVC 膜を LAPS センサ表面上に形成し、各イオンに対する感度曲線を測定した例である。いずれのイオンに対しても、少なくとも  $10^{-6}$  mol/l 台の濃度から検出が可能であり、一価イオンに対しては 57~59 mV / decade, 二価イオンに対しては 26~27 mV / decade という感度が得られている。

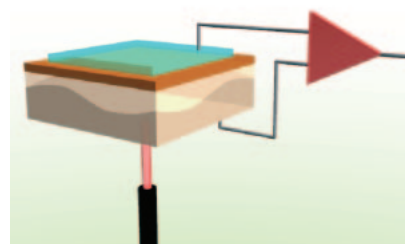


図4. Principle of the chemical imaging sensor. The photocurrent is dependent on the width of the depletion layer, which is distributed in response to the spatial distribution of the ion concentration on the sensing surface.

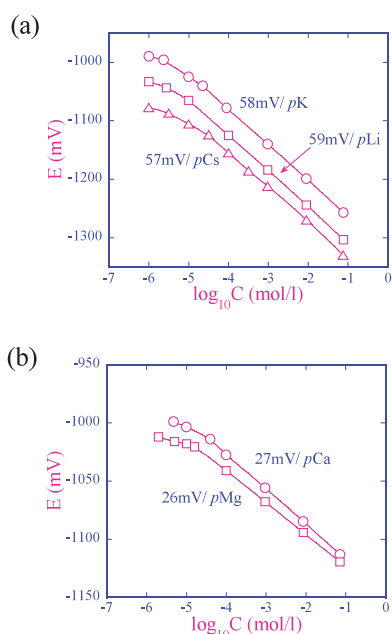


図3. Calibration plots for (a) monovalent and (b) divalent cations.

## 2. 半導体化学イメージセンサ

### 2.1 測定原理

半導体化学イメージセンサ[5,6]は LAPS の測定原理を応用したものである (図4) . EIS 系に逆バイアスを印加した状態で、センサ表面上に置かれた試料溶液 (またはゲル等) 中にイオン濃度の空間分布が存在すると、これを反映して半導体内には空乏層厚の空間分布が生じる。センサ裏面側から変調された集光レーザービームを照射すると、照射位置における局所的な空乏層容量に依存した振幅を持つ交流光電流が発生するため、レーザービームでセンサをスキャンすることによって得られる電流像は、センサ表面上におけるイオン濃度の空間分布を表したマップとなる。

### 2.2 測定システム

化学イメージセンサ測定システムの外観を図5に示す。装置は実体顕微鏡をベースとしている。

センサおよび試料を搭載するステージの下方に、レーザービームの集光と走査を行うユニットが設置されており、センサ基板裏面直下の対物レンズから射出されるレーザービームによってセンサ裏面の各点を照射する。上方には赤外線 CCD が設置され、レーザービームのフォーカス調整と位置合わせをモニタ画面上で行うことができるようになっている。

この測定システムを制御するソフトウェアを新たに開発した。I-V 測定モード, Constant-Current モード, イメージングモードの3つの測定モードを備え、設定した測定パラメータにしたがって、変調周波数やバイアス電圧の設定, レーザービームの移動, センサ信号である交流光電流の計測, データ処理などを行う。プログラムは LabVIEW 開発システム (ナショナルインスツルメンツ社製) を用いて作成した。



図5. Scanning system for the chemical imaging sensor.

### 2.2.1 I-V 測定モード

I-V 測定モードは図 2(a)のような電流電圧曲線を測定するための測定モードであり、外部回路から EIS 系に印加するバイアス電圧を変化させて交流光電流の値を記録する。この測定モードの操作画面を図 6 に示す。

バイアス電圧の掃引範囲や測定時間などの測定パラメータを入力して測定を行う。測定終了後には電流電圧曲線とその 2 回微分波形が表示され、曲線の変曲点に対応するバイアス電圧を求めることによって、電圧軸方向へのシフト量を計算することができる。あらかじめ図 2(b)のような校正曲線を作成しておけば、以降は電流電圧曲線のシフト量からイオン濃度に換算することができる。

時間的に大きく変化しない試料で、かつイメージングの必要がない場合に、イオン濃度を精度よく測定するための測定モードである。

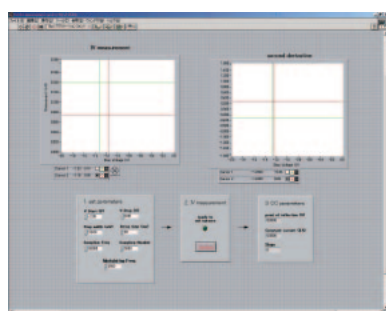


図 6. User interface for the I-V measurement mode, which measures the current-voltage curve of the sensor to determine the ion concentration.

### 2.2.2 Constant-Current モード

I-V 測定モードでは指定された範囲でバイアス電圧を掃引して電流電圧曲線を得るのに対して、Constant-Current モードでは、センサ信号である交流光電流の振幅が常に一定値となるように、外部回路から印加するバイアス電圧の値に対してフィードバック制御を行い、このバイアス電圧の値を時間の関数として記録する。

測定位置におけるイオン濃度の時間変化を記録することができるので、反応速度の計測等に有用であると考えられる。

図 7(a)は Constant-Current モード測定のユーザーインターフェイス、図 7(b)は pH4 から pH10 までの溶液をセンサ面に順次接触させた時のセンサ応答をこの測定モードで記録した例である。

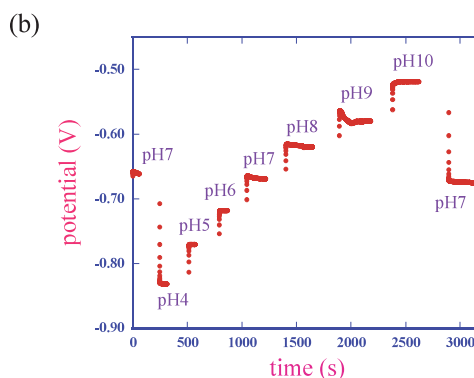
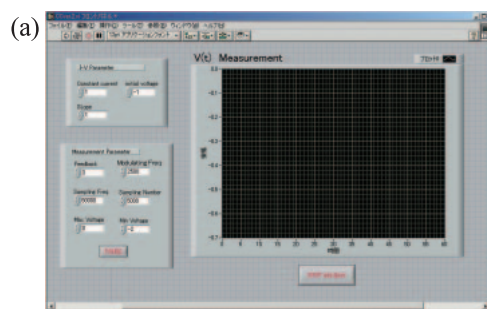


図 7. (a) User interface for the constant-current mode, which measures the potential change as a function of the time. (b) An example of temporal recording of pH change.

### 2.2.3 イメージングモード

イメージングモードは、センサ面上に置かれた試料内におけるイオン濃度の 2 次元的な空間分布を画像化するための測定モードである。ピクセルごとに電流電圧曲線のシフト量を測定すると時間がかかりすぎるため、このモードではバイアス電圧は一定値に固定したままレーザービームの走査を行い、各ピクセルにおける交流光電流の振幅値を記録する。

この測定モードの操作画面を図 8 に示す。印加するバイアス電圧のほか、走査範囲や解像度（ピクセル数）、走査速度などのパラメータを入力して測定を行う。

測定された電流値を濃淡表示またはカラー表示したものが「電流像」であるが、これはあらかじめ測定された電流電圧曲線を用いて「ポテンシャル像」に換算することができる。さらにセンサの感度（イオン濃度の変化に対するポテンシャルの変化）を用いて「イオン濃度画像」に換算することが可能である。

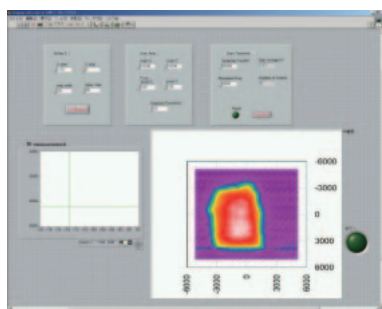


図 8. (a) User interface for the imaging-mode operation.

## 2.2 測定例

化学イメージセンサの応用分野としては、電気化学反応の可視化や、生体試料の観察などが考えられる。

図 9 は、寒天培地上で培養された大腸菌コロニー周辺の pH が代謝に伴って変化する様子を可視化した例である。化学イメージセンサを用いることによって、生体の活動を視覚的・定量的に測定することが可能である。

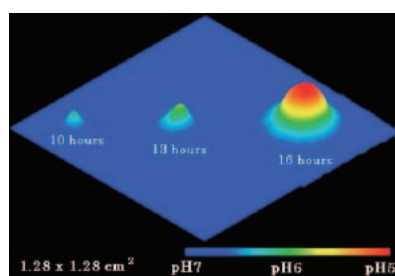


図 9. Visualization of the pH distribution around an *E. coli* colony after incubation of 10, 13 and 16 hours.

図 10(a)は、電解質溶液中に設置された平行平板電極間で電気分解を行った後、イオンの拡散によって pH 分布が変化する様子を可視化した例である。陽極、陰極のまわりでそれぞれ陰イオン、陽極イオンの拡散に伴う pH 分布の時間変化が観測されている。図 10(b)は、分子量が異なる 4 種類のナトリウム塩水溶液について、測定された pH 分布の時間変化からイオンの拡散係数を求め、陰イオンの分子量と拡散係数の関係をプロットしたものである（陰イオンの拡散係数の値は陽イオン= $\text{Na}^+$ の拡散係数の測定値で規格化してある）。このように、化学イメージセンサを用いることによって、反応や拡散を直接観察したり、定量的な解析を行うことが可能になる。

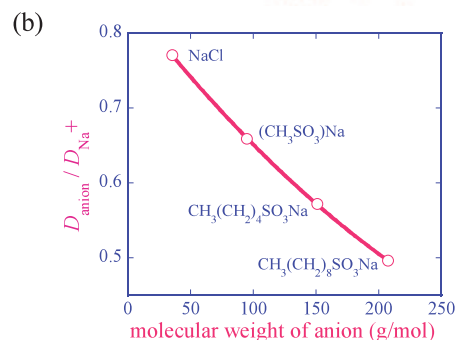
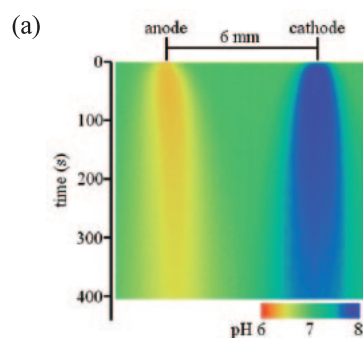


図 10. (a) Redistribution of pH between two electrodes due to diffusion of ions after electrolysis. (b) Diffusion coefficients of various anions (normalized to that of  $\text{Na}^+$ ) plotted as a function of the molecular weight.

## 3. 化学イメージングセンサの高速化

### 3.1 多点同時計測

イメージングモードでは、各ピクセルにおける電流値を逐次測定するため、ピクセル数が多くなるにしたがって測定時間が非常に長くなるという問題がある。1 ピクセルあたりの測定時間を 10msec とすると、例として  $128 \times 128 = 16,384$  ピクセルの解像度で測定を行うためには約 164 秒の測定時間が必要であり、時間的に変化する試料を 2 次元の動画として記録することは現状では困難である。

LAPS センサ基板上的複数の位置において同時計測を行うための手法として、周波数多重化を用いる方法が提案されている[7]。すなわち、センサ基板上的複数の位置を、各々異なる周波数で変調された複数の光源で同時に照射する。このとき得られる電流波形は、各位置で発生する交流光電流信号を合成したものとなるので、フーリエ解析によって各周波数成分を取り出すことができる。

本研究では、この手法をイメージングに応用し、直線状に配列された複数の光源を、配列と垂直な方向に走査することによって 2 次元画像を得る、新しい走査方法の開発を行っている。配列上のピクセルは同時に測定できるため、測定時間の大幅

な短縮が期待される。現在までに 16 個の LED のリニアアレイを用いた走査システムを試作した。

図 11 は試作した LED ドライバ回路である。チャンネルごとに正確な周波数で光の変調を行うため、水晶発振子とプログラマブル波形発生器 AD9833BRM (アナログ・デバイセズ社) を搭載したカードをチャンネル数分だけ用意した。チャンネルごとに任意の周波数の正弦波波形で光強度を変調することができる。将来、カードの数を増やせば、さらに多くの光源に対応することができる。

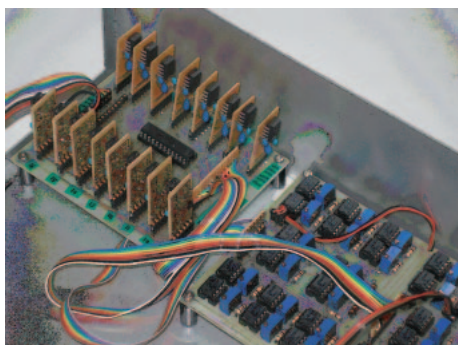


図 11. LED driver unit equipped with programmable function synthesizers. LEDs are modulated with independently specified frequencies.

図 12 は、1 枚のセンサ基板上的異なる位置を、それぞれ異なる周波数で変調された 16 個の LED で照射した際に測定された光電流信号の FFT スペクトルを示している。各チャンネルの変調周波数は 2.0kHz, 2.1kHz, ..., 3.5kHz と 100Hz 間隔に設定し、測定のサンプリング周波数は 100kHz とした。各変調周波数に対応したピークが観察されているが、半導体層中のキャリア拡散プロセスがローパスフィルタとして働くため、周波数が高くなるにしたがって信号強度が減少している。

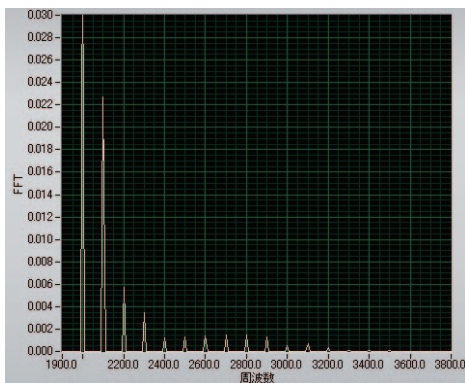


図 12. FFT spectrum of the LAPS signal generated with 16 LEDs with different frequencies, 2.0 kHz, 2.1 kHz, ..., 3.5kHz.

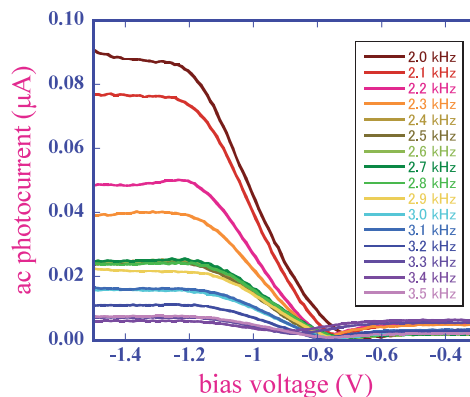


図 13. Simultaneous measurement of the current-voltage characteristics at 16 points in the sensing area.

図 13 は、各周波数の振幅成分をバイアス電圧に対してプロットしたものである。この方法により、センサ面内の 16 箇所まで電流電圧曲線が同時に測定できている。

なお、イメージングに応用する場合は、変調周波数の低い LED ほど光強度を小さくすることによって各チャンネルから均一な信号を得ることができる。この較正を自動的に行うための回路とソフトウェアを作製中である。

### 3.2 LED リニアアレイによる高速スキャン

LAPS の多点同時計測の手法を取り入れた化学イメージングシステムを試作した。装置の外観を図 14 に示す。16 個の LED を 3.6mm 間隔で並べた LED リニアアレイを自動ステージに搭載し、配列と垂直な方向にスキャンできるようにした。走査領域の幅は約 54mm である。ステージ上には直径 4 インチのセンサ基板が固定されており、センサ面上には溶液を入れる測定セルと参照電極が設置されている。

1 ラインあたりの測定時間を 50msec とすると、解像度 16×128 ピクセルの画像測定に要する時間は約 6.4 秒である。今後、1 ラインあたりの光源数を増やすことによって、測定時間は変わらずに画像の解像度を大きくすることが可能である。

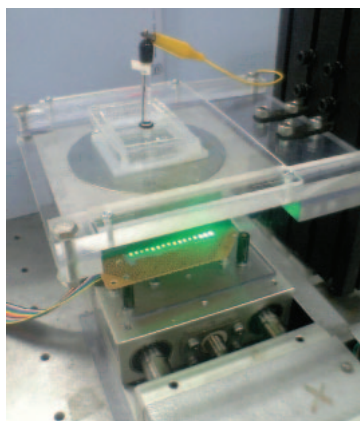


図 14. Scan system with an array of 16 LEDs. The size of the sensor is 4 inches in diameter.

この走査システムを用いて pH4~pH10 の溶液を画像化した例を図 15 に示す. pH 値による電流値の変化が観察されている.

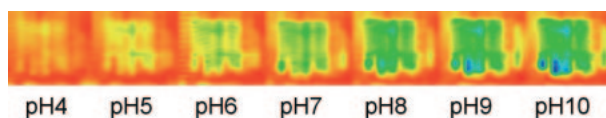


図 15. Current images of pH buffer solutions measured with the new scan system.

#### 4. 今後の研究の展望

半導体化学イメージセンサの空間分解能はレーザービームのスポット径, 半導体層の厚さ, 少数キャリア拡散長などのパラメータで決まる. 5 ミクロンのパターンは既に解像されており, アモルファス Si を用いれば 1 ミクロン程度の分解能も達成できるものと期待される.

化学イメージセンサの応用範囲を広げるため, 今後以下のような研究を行っていく予定である.

##### (1) 化学イメージセンサの性能向上

より小さな構造を高精度に検出できるよう, 空間分解能や S/N 比を改善するとともに, ダイナミックな測定を可能とするためには測定速度の向上が必要である.

##### (2) マルチセンサ

センサ面を修飾することによって, 水素イオン濃度 (pH) 以外のさまざまな化学物質の濃度分布

を画像化することが可能である. 異なる化学物質に対して感度を有する膜を一枚のセンサ基板に集積化することによってマルチセンサを作製することができる.

##### (3) 大型試料への対応

大型試料の測定に対応したセンサ基板および測定装置を開発する. 複数の光源で同時に走査するなどの方法によって測定時間を短縮する必要がある.

##### (4) 微小流体デバイスへの応用

センサ面上に微小流路を作製することにより, 化学イメージセンサの微小流体デバイスへの応用を図る.

本研究に対する, 東北大学グローバル C O E 「新世紀世界の成長焦点に築くナノ医工学拠点」のご支援に感謝いたします.

#### 文 献

- [1] Bergveld P. Development of an ion-sensitive solid-state device for neurophysiological measurements. *IEEE Trans Biomed Eng BME-17*, 70, 1970.
- [2] Matsuo T and Wise KD. An integrated field-effect electrode for biopotential recording. *IEEE Trans Biomed Eng BME-21*, 485-487, 1974.
- [3] Schöning MJ, Poghossian A, Yoshinobu T, and Lüth H. Semiconductor-based field-effect structures for chemical sensing. *SPIE Proc 4205*, 188-198, 2001.
- [4] Hafeman DG, Wallace Parce J, and McConnel HM. Light-addressable potentiometric sensor for biochemical systems. *Science 240*, 1182-1185, 1988.
- [5] Nakao M, Yoshinobu T, and Iwasaki H. Scanning-laser-beam semiconductor pH-imaging sensor. *Sensors and Actuators B 20*, 119-123, 1994.
- [6] Yoshinobu T, Iwasaki H, Ui Y, Furuichi K, Ermolenko Yu, Mourzina Yu, Wagner T, Näther N, and Schöning MJ. The light-addressable potentiometric sensor for multi-ion sensing and imaging. *Methods 37*, 94-102, 2005.
- [7] Zhang QT, Wang P, Parak WJ, George M, and Zhang GY. A novel design of multi-light LAPS based on digital compensation of frequency domain. *Sensors and Actuators B 73*, 152-156, 2001.