

半導体技術と電気化学センサ技術を融合した

増幅型酸化還元センサに関する研究

(A study on an amplified redox sensor integrated with  
semiconductor technology and electrochemical sensor technology)

2016 年 1 月

博士（工学）

高橋 聡

豊橋技術科学大学

## 半導体技術と電気化学センサ技術を融合した 増幅型酸化還元センサに関する研究

電気化学センサは、化学物質の種類や濃度による電気化学反応を利用し化学物質を検出するセンサである。その中でも化学物質の酸化還元反応を用いて化学物質を検出するセンサが酸化還元センサである。酸化還元センサは、高感度、高速応答性、簡易性、小型化などの優れた特徴を持っている。また、測定系を構築してしまえば高度な測定技能・知識を利用者に要求しない一面があり、医療分野、環境分野、化学分野などの他分野にも応用がなされている。近年、半導体技術と組み合わせた酸化還元センサの研究が盛んに行われている。半導体技術を用いることによって微細加工や測定に必要な信号処理回路を1チップに集積化することが可能になり、応用分野もさらに拡大の傾向を見せている。

近年、その場でのリアルタイム計測が可能な現場計測(オンサイトモニタリング)に適したセンサの要求が高まっている。従来、化学物質の分析手法として、分光計測や吸光計測等の光を用いた計測、高速液体クロマトグラフィー等の分子量差を用いた化学物質の検出・定量評価が行われてきた。しかし、これらの分析手法には大きな光学系が必要であることや加圧や分子修飾等の前処理が必要となり、小型化が困難であり現場計測には不向きである。一方、酸化還元センサは、半導体技術を用いることで測定場所に制限がなく、これらの前処理や大型な装置が必要ないため、現場計測に適したセンサとして期待されている。

現場計測には、小型で低濃度の化学物質が検出可能および簡易にリアルタイム測定できることが要求される。しかしながら、酸化還元センサは濃度と測定電流(酸化還元電流)の間に比例関係があり、低濃度の化学物質を計測する場合、小さな電流を測定しなければならない。そのため、高感度な電流計測器が求められる。しかしながら、計測器は高感度になるほど装置の規模が大きくなり、酸化還元センサにおいて現場計測を実現する上で課題となる。このような現状を鑑み、本研究では半導体技術を利用し電気化学センサに増幅機能を付与することを提案した。増幅機能を付与することによって、センサと計測器間の外乱ノイズの影響を減少させ、増幅することによって小型計測器による測定が達成でき、現場測定に適したセンサが実現可能となる。

本研究では、半導体技術と酸化還元センサを融合した増幅型酸化還元センサを提案した。増幅型酸化還元センサは電流増幅素子であるバイポーラトランジスタとセンシングエリアである作用電極を一体化した構造をしており、作用電極から酸化還元電流を単素子で直接増幅できる特徴を有している。また、バイポーラトランジスタは金属酸化物半導体電界効果トランジスタに比べ、低周波ノイズであるフリッカーノイズの影響が少ない。そのため、低周波領域で測定を行う電気化学測定において、バイポーラトランジスタで増幅することで、金属酸化物半導体電界効果トランジスタによって増幅することに比べ検出限界の向上が期待できる。そこで提案したセンサを作製し、電気化学測定法の一つであるサイクリックボルタンメトリー(CV)を用い、フェリシアン化カリウムの測定を行った結果、電極のみの場合に比べ75~110倍の還元電流の増幅に成功した。しかし、バイポーラトランジスタの動作電圧が酸化還元電流により変動してしまい、小さな酸化還元電流になるとバイポーラトランジスタが動作しなくなり、増幅できない問題があった。また、単素子において増幅する場合、バイポーラトランジスタの整流性から酸化と還元の両方の電流を増幅できない問題があった。

そこで本研究では、作製した増幅型酸化還元センサの問題点を解決するため、バイポーラトランジスタのベース端子に酸化還元電流とは別にバイポーラトランジスタの動作電圧を固定化するためのバイアス電流源を挿入した測定システムを提案した。提案した測定システムは電流源を2

つ挿入した構成になっており、作用電極-バイポーラトランジスタのベース間とバイポーラトランジスタのエミッタ-電気化学アナライザの電流計間に電流源を挿入した構成になっている。提案した測定システムにより酸化還元電流の増幅に成功した。しかし、 $10\ \mu\text{M}$  フェリシアン化カリウムの測定を行った結果、電気化学測定においてノイズになる電極-電気2重層間の充電電流によってピーク電流が埋もれてしまう問題が生じた。そこで、充電電流の影響が小さい電気化学測定法である矩形波ボルタンメトリー (SWV) 法を用いることで、低濃度である  $1\ \mu\text{M}$  のフェリシアン化カリウムの検出を達成した。この測定システムは、半導体技術を用いることで電流源も集積化可能であるため、測定系の規模を増大させることなく感度の向上が可能である。

また、増幅型酸化還元センサが低周波測定を行う電気化学測定法に適したセンサであるか入力換算電流ノイズから検証した。低周波ノイズにおける検出限界の評価として、金属酸化物半導体電界効果トランジスタによって構築したトランスインピーダンスアンプ (TIA) 回路と比較を行った。その結果、CV 法を使用した場合、増幅型酸化還元センサの入力換算電流ノイズは  $19.1\ \text{pA}_{\text{RMS}}$  であり、金属酸化物半導体電界効果トランジスタにおいて構成した TIA 回路は  $219.8\ \text{pA}_{\text{RMS}}$  であった。この結果から、CV 法を用いた電気化学測定において増幅型酸化還元センサによる増幅は 11.5 倍程度 TIA 回路に比べ最低検出感度向上が期待できる結果が得られた。また、矩形波ボルタンメトリー (SWV) 法を使用した場合、増幅型酸化還元センサの入力換算電流ノイズは  $46.6\ \text{pA}_{\text{RMS}}$ 、金属酸化物半導体電界効果トランジスタにおいて構成した TIA 回路は  $107\ \text{pA}_{\text{RMS}}$  であり、増幅型酸化還元センサによる増幅は 2 倍程度検出感度向上が期待できる結果が得られた。

次に、CV 法における入力換算電流ノイズの実効値からフェリシアン化カリウムの検出限界の算出した。その結果、フェリシアン化カリウムの測定において、TIA 回路では  $3\ \text{nM}$  が検出限界であるのに対し、本センサを使用した場合  $30\ \text{pM}$  まで測定できる可能性を示した。

最後に、増幅型酸化還元センサのバイオ計測への応用検証として、グルコース検出の実験を行った。増幅型酸化還元センサに酵素膜を固定化しグルコースの計測を行った。クロノアンペロメトリー (CA) 法を用い、グルコースの測定を行った結果、グルコースの酵素反応に基づく電流変化を増幅してリアルタイムに計測に成功した。このことからバイオ計測への応用が可能であることを示した。

本研究では、現場計測に適したセンサを実現するため、半導体技術を利用し酸化還元センサに増幅機能を付与することを提案し、小型で低周波ノイズの影響が小さい増幅型酸化還元センサを作製した。増幅型酸化還元センサは酸化還元電流を 100 倍程度に増幅することができ、低濃度の化学物質計測が可能である。応用例として、環境分野においては工場から排出される微量の重金属の測定、農業分野では植物の栄養分の分析、医療分野では介護用途での非侵襲型生体情報モニタリングなど幅広い活用が期待される。

# **A study on an amplified redox sensor integrated with semiconductor technology and electrochemical sensor technology**

The electrochemical sensor can detect chemical substances from electrochemical signals derived from substances type and concentration. In particular, a sensor for detecting chemical substances by using an oxidation-reduction reaction of chemical substances is a redox sensor. Redox sensor is attractive due to their fast response, sensitivity, simplicity and miniaturization. Therefore, it does not require the measurement skills and knowledge once you build a measurement system. Redox sensor is used in medical field, environmental field, chemistry field, and also other field. Recently, study of redox sensor combined with semiconductor technology is being actively conducted. Redox sensor is possible to integrate on one chip with signal processing circuits by using semiconductor technology. Therefore, redox sensor is expected for application to onsite monitoring.

Onsite monitoring is required to be small size device, chemical substance with low concentrations detection limits and real-time measurements. In conventional analysis method, the detection of chemical substances and quantitative evaluation used spectroscopy, absorption measurement and high performance liquid chromatography. However, spectroscopy and absorption measurement require large optical system for measuring the chemicals, chromatography requires a preprocessing. Therefore, they were not suitable for onsite monitoring. However, the redox output current is reduced if the sensing area is small and/or the concentration of the sample is low. It is necessary to measure a very small current for detecting species with low concentrations.

We have proposed the use of an amplified redox sensor (ARS), which combines the sensing area that perform as a working electrode with a bipolar transistor. The proposed sensor can directly amplify a small current signal, and such amplification can be achieved with a single element, namely, the bipolar transistor. By applying an amplification function, the need for sensitive current measuring devices is eliminated. It is considered that the sensor suitable for field measurement can be realized. Moreover, most of the electrochemical measurements is being conducted under low frequency range. The less amplification of low frequency noise can be achieved. Generally, flicker noise of bipolar transistor is smaller than MOSFET (Metal Oxide Semiconductor Field Effect Transistor). In other words, with the amplification by bipolar transistor, improvement of detection limit is expected. As a result, ARS amplifies the oxidation current up to 75-100 times bigger. However, the drive voltage of bipolar transistor is influenced by redox current. When the redox current is small, it might not be amplified. Moreover, when amplified in a single element, there is a problem that cannot amplify both current of the oxidation and reducing from the rectification of bipolar transistor.

To solve this problem, we propose a new measurement method in which both the redox current and a bias current source that can stabilize the working voltage of bipolar transistor are being inserted into the base terminal. Moreover, proposed measurement system can amplify the current of both oxidation and reduction and also can measure the small current. In proposed measurement system, potassium ferricyanide of 1  $\mu\text{M}$  can be detected. Since this current source is possible for integration by using a semiconductor technology, increased sensitivity without increasing the size of the measurement system can be expected. For the measurement of the limit of low noise, we clarified our bipolar transistor is suitable for the measurement of low frequency by comparing the low frequency noise of both sensor with bipolar transistor and



sensor with transimpedance amplifier (TIA) which is built from MOSFET. From the result of cyclic voltammetry(CV) with a frequency of 0.083 Hz, the effective value of noise range from 0.061 Hz to 0.122 Hz is calculated. The noise is 19.1 pA<sub>RMS</sub> in the ARS devices and 219.8 pA<sub>RMS</sub> in the TIA. From this result, the improvement of detection sensitivity is expected to be 11.5 times higher with the amplification by bipolar transistor. From the result of square wave voltammetry(SWV) with a frequency range from 0.75 Hz to 15 Hz, where low frequency voltages are used to give rise to redox reactions, the noise is 46.6 pA<sub>RMS</sub> in the ARS devices and 107 pA<sub>RMS</sub> in the TIA. From this result, the improvement of detection sensitivity is expected to be 2 times higher with the amplification by bipolar transistor. Results of calculating the limit of detection of potassium ferricyanide from the effective value of the noise in the CV method, the detection limit is 3 nM in the TIA circuit, whereas the possibility of measuring up until 30 pM is indicated when using this sensor.

Finally, we conducted an experiment of glucose detection to check the applicability of this sensor in biomedicine. Glucose response was successfully detected by chronoamperometry using our ARS. ARS showed that it is applicable to bio-measurement. As a result of the above, it is indicative of the possibility of the amplification type redox sensor as onsite monitoring device. Results show that this sensor can be used in a wide range of applications. For example, in environmental field, the measurement of low concentration of heavy metal discharged from factories is possible. It can also be used in the analysis of plants nutrition in agricultural field and the monitoring of noninvasive organism for nursing use in medical field.

# 目 次

<b>第 1 章</b>	<b>序論</b>	<b>1</b>
1.1	半導体技術を用いた集積化電気化学センサの現状	2
1.1.1	電気化学マルチモーダルセンサ	6
1.1.2	電気化学イメージセンサ	10
1.1.3	電気化学マイクロセンシングデバイス	13
1.2	バイオセンサへの応用	15
1.3	現場計測に向けた集積化電気化学センサについて	16
1.4	本研究の目的	16
<b>第 2 章</b>	<b>酸化還元センサの測定原理</b>	<b>22</b>
2.1	はじめに	22
2.2	酸化還元センサの測定環境	22
2.2.1	酸化還元測定に必要な電極の役割	22
2.2.2	酸化還元センサの測定系	28
2.3	電気化学測定法	29
2.3.1	サイクリックボルタンメトリー (CV)	31
2.3.2	矩形波ボルタンメトリー (SWV)	38
2.3.3	クロノアンペロメトリー (CA)	39
2.4	酸化還元センサの現場応用への課題	39
2.5	まとめ	40
<b>第 3 章</b>	<b>増幅型酸化還元センサ</b>	<b>44</b>
3.1	はじめに	44
3.2	バイポーラトランジスタを基にした増幅型酸化還元センサの特徴	44
3.3	原理の検証	47
3.3.1	バイポーラトランジスタを用いた原理検証	47
3.3.2	バイポーラトランジスタとダイオードを用いた原理検証	50
3.3.3	バイポーラトランジスタとダイオードによる電位のシフトの影響について	52
3.4	増幅型酸化還元センサの設計と作製	53
3.4.1	バイポーラトランジスタの設計	53
3.4.2	バイポーラトランジスタの作製	55
3.5	増幅型酸化還元センサの評価と課題	58
3.5.1	増幅型酸化還元センサの評価	58
3.5.2	増幅型酸化還元センサの課題	63
3.6	まとめ	64
<b>第 4 章</b>	<b>増幅型酸化還元センサの検出限界の改善と評価</b>	<b>66</b>
4.1	はじめに	66
4.2	提案した測定システムの動作原理	66
4.3	改善された増幅型酸化還元センサの評価	70
4.4	増幅型酸化還元センサと MOS によるトランスインピーダンスアンプ (MOS-TIA) 回路における低ノイズの評価	80

4.5	まとめ	84
<b>第 5 章</b>	<b>増幅型酸化還元センサのバイオ計測応用</b>	<b>86</b>
5.1	はじめに	86
5.2	酵素を用いた酸化還元センサの原理	86
5.3	酵素の固定化法	87
5.4	グルコースの計測実験	89
5.4.1	電極のみにおけるグルコース応答の確認実験	89
5.4.2	増幅型酸化還元センサにおけるグルコース計測	91
5.5	まとめ	94
<b>第 6 章</b>	<b>総括</b>	<b>97</b>
	謝辞	100
付 録 A	電流増幅型高感度酸化還元センサプロセスチャート	103
付 録 B	アニール時間によるバイポーラトランジスタの特性	116

# 第1章 序論

本章では，研究の背景と目的について述べる．本研究で扱う電気化学センサは化学物質の種類や濃度を電気化学反応由来の電気信号に変換し，化学物質を検出・定量化するセンサである．電気化学は使用する応用範囲が広く，図 1.1 に示すように多種多様な分野に応用されている [1]．この中でも，電気化学センサは医療分野や環境分野など将来重要になってくる問題への解決に向けたセンサとして期待されている．電気化学センサは，高感度，高速応答性，簡易性，小型化などの優れた特徴を持っている．

近年，電気化学センサと半導体技術とを組み合わせた研究が盛んに行われている．半導体は，自動車，家電，携帯電話などの様々な製品を製作するために欠かすことのできないものであり，半導体技術は世界一微細加工技術が発達している分野である．半導体技術を用いることによって微細加工や測定に必要な信号処理回路を 1 チップに集積化することによって，今までの電気化学センサではできなかった小型化や高機能化が可能となり，応用分野もさらに拡大の傾向を見せている．この電気化学分野における半導体技術を応用した電気化学センサの現状，それらの応用先を述べた後，本研究の位置づけと研究の目的について述べる．

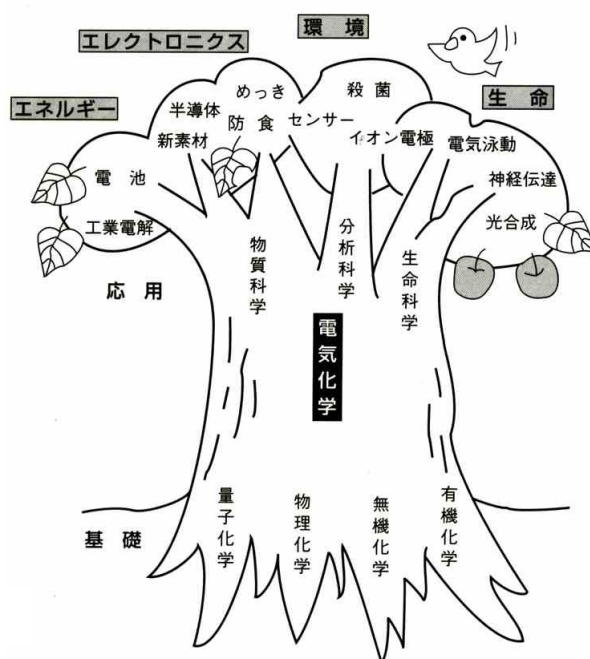


図 1.1: 電気化学の使用用途 [1]

## 1.1 半導体技術を用いた集積化電気化学センサの現状

近年、電気化学センサはエネルギー分野や環境分野、医療分野と幅広い分野に活用されている [1]。電気化学センサは、化学物質の種類や濃度に由来する電気化学信号を利用し化学物質を検出するセンサである。化学物質の他の検出方法として、分光計測や吸光計測、蛍光計測等の光を用いた計測 [2] や、高速液体クロマトグラフィー等の分子量差を用いた化学物質の検出 [3] がある。光を用いた計測装置として、エネルギー分散型蛍光 X 線分析装置 (図 1.2 [4]) がある。この装置は、測定対象の非破壊分析が可能であり、前処理も不要という特徴を持っている。また、測定対象へ X 線を照射し、蛍光 X 線スペクトルを得るまでの測定時間は 5 分から 20 分程度で分析が可能である。しかしながら、エネルギー分散型蛍光 X 線分析装置は真空系や光学系が必要であり、小型化が困難である。また、高速液体クロマトグラフィー (図 1.3 [5]) は測定対象が液体状態であればすべて分析可能であり、無機イオンから有機化合物、低分子、高分子、イオン性、分子性に関わらず複数の物質の定性分析、定量分析が可能である。しかしながら、測定対象を検出するために、分子修飾等の前処理が必要であり、小型化や簡易性に課題がある。その点、電気化学センサは、電極と電極電位を規制するポテンシオスタットのみの小型な測定系で化学物質を検出することが可能である。さらに電気化学センサは、化学物質の検出に高度な測定技能・知識を利用者に要求しないため、簡易的に測定することが可能である。そのため、クロマトグラフィーや分光計測よりも小型かつ簡便に化学物質を検出できるセンサとなることが期待されている [6]。近年、半導体技術と組み合わせることによって電気化学センサは化学物質の検出の迅速化、測定系の小型化、センサの高機能化などが行われている [7-27]。

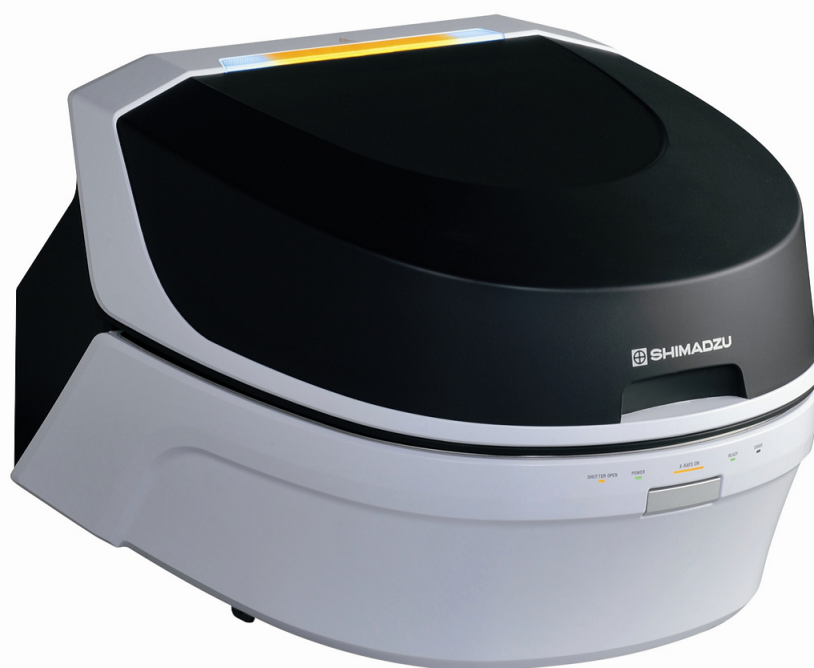


図 1.2: エネルギー分散型蛍光 X 線分析装置 (島津製作所) [4]



図 1.3: 高速液体クロマトグラフ (島津製作所) [5]

半導体技術を利用した集積化電気化学センサは、1987年にTurnerらによってポテンシオスタットを相補型金属酸化物半導体（CMOS：Complementary Metal Oxide Semiconductor）によって構築し、集積化する提案がなされたのが最初である [7]。図 1.4 に初めて集積化された電気化学センサの模式図を示す。この時、電気化学測定に必要な測定装置は幅 480 mm，高さ 300 mm，奥行 510 mm，重さ 31kg と大きな測定装置が必要であった。電気化学測定には様々な測定法があり、これら全てを装置内に組み込んでいるため、測定装置が大規模なものになる。そこで、Turnerらは電気化学測定に最低限必要なポテンシオスタットを CMOS によって集積化し、 $0.53\text{ mm}^2$  のチップにおいて電気化学センサについて報告した。この時点では、集積化されていたのはポテンシオスタットのみであり、電極は外付けであり、1 チップのみでの測定は実現されなかった。電極と計測システムを一体化した提案は 2005 年 Zhang らによって提案された [8]。図 1.5 と図 1.6 に、Zhang らによって提案された電極と計測システムの概念図とチップ写真を示す。図 1.5 では化学物質の検出に必要な作用電極と参照電極，対向電極，ポテンシオスタット，電気化学測定法の一つであるサイクリックボルタンメトリー (CV) 法の波形制御回路が 1 チップ上に集積化されている。図 1.6 のセンサは  $0.5\text{ }\mu\text{m}$  CMOS プロセスを使用しており、チップサイズは  $3\text{ mm}^2$  と小型で化学物質の検出が可能である。しかしながら、参照電極および CV の波形制御回路は耐久性に問題があったため、別チップの参照電極，CV 波形を印加している。従って、1 チップでの化学物質の検出としては不十分であった。そこで、我々の研究室では、電極と計測システムを一体化し安定した化学物質の検出を 1 チップ上で実現するために、集積化電気化学センサを設計・作製した [9–12]。図 1.7 に示したチップには、電極系と計測システムが一体化しており、更にはシフトレジスタを組み込むことで電極からの信号の読み出しを行っている。さらにこのチップは、作用電極をアレイ状に配置しており、化学物質のイメージング検出器としての使用も可能である。図 1.8 のチップでは、矩形波ボルタンメトリー (SWV) 法の波形発生回路を集積化することで、測定時間の高速化を行っており、高速応答性に特化したセンサとなっている。

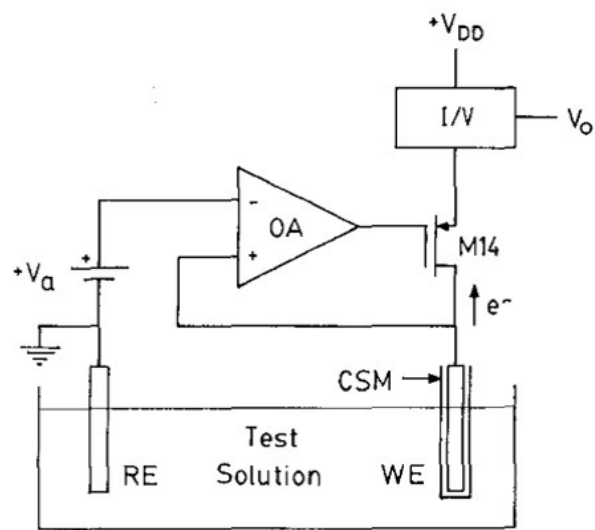


図 1.4: 初めて集積化された電気化学センサ [7]

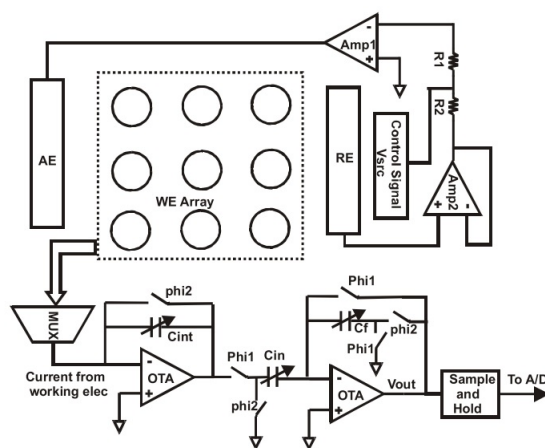


図 1.5: Zhang らによって提案された電極系と計測システムの概念図 [8]



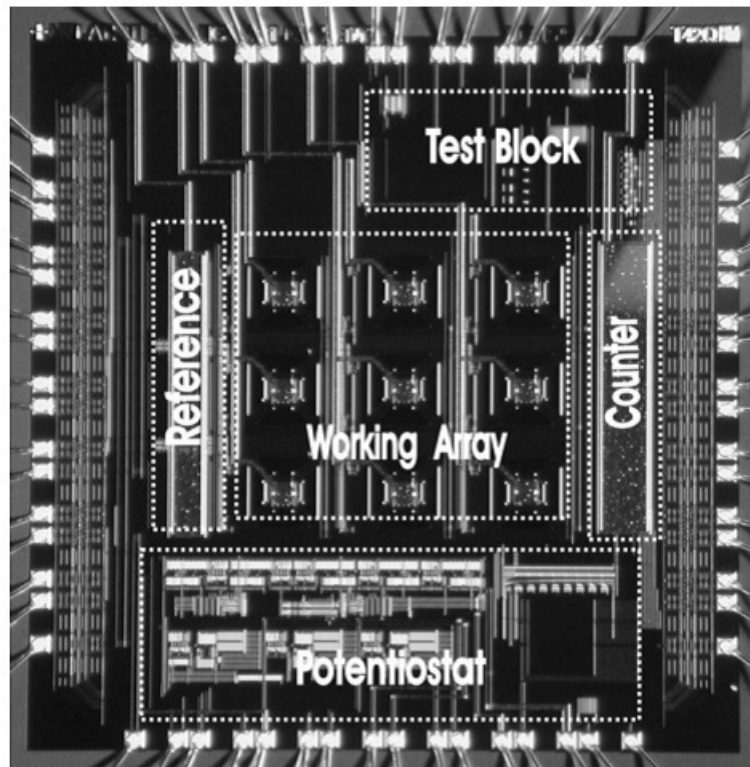


図 1.6: Zhang らによって提案された電極系と計測システムのチップ写真 [8]

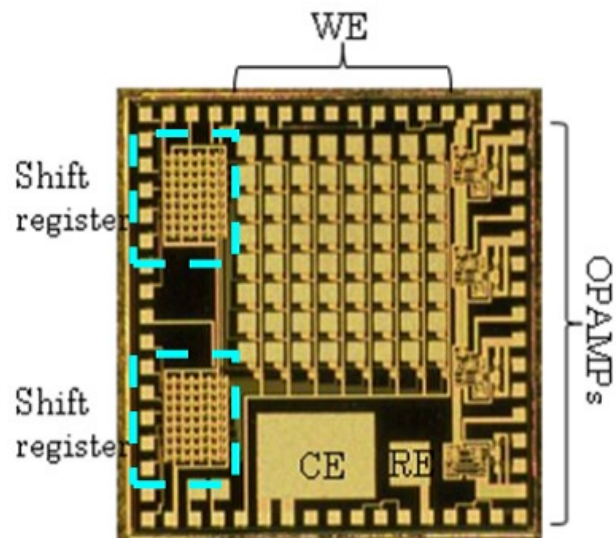


図 1.7: 電極系と計測システム一体化した電気化学センサ [9]



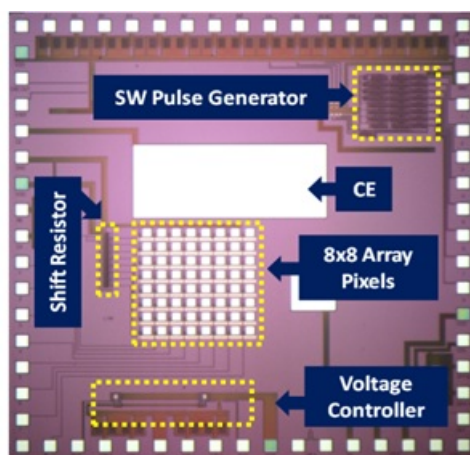


図 1.8: 波形発生回路を内蔵した集積化電気化学センサ [11]

また、電極と計測システムを集積化するだけでなく、電気化学センサの高機能化を目指している研究も行われている。次節から、電気化学センサの高機能化したデバイスの研究動向について述べる。

### 1.1.1 電気化学マルチモーダルセンサ

マルチモーダルセンサとは、1チップで複数の物理量を取得するセンサであり、それら複数の情報から多角的な分析が可能なセンサである。マルチモーダルセンサは1つの物理量を取得するセンサに比べ、同時に複数の情報が取得できることから測定対象の状況を把握しやすいという特徴を有している。中里らは、化学物質を検出するうえで、1チップ上で電位検出、電流検出、インピーダンス検出が可能な集積化電気化学マルチモーダルセンサを開発をした [13]。図 1.9 に、作製されたマルチモーダルセンサのチップ写真と1ピクセルあたりの拡大図を示す。電位、電流、インピーダンスの検出方法について説明する。電位検出は、従来トランジスタのゲート電極に検出用分子を用いたバイオトランジスタ方式が一般的であった。しかしながら、この方式は金属酸化物半導体電界効果トランジスタ (MOSFET : Metal Oxide Semiconductor Field Effect Transistor) のゲートに直接検出用分子を固定するため汎用性に乏しく、標準 CMOS 製造ラインを使用することが困難である。そこで、中里らは検出用分子をビーズに固定化し、化学反応をゲート電極上に作製した化学反応膜で検出する方法を提案した [14, 15]。この検出方法は、測定対象物質を酵素反応によって酸化還元物質に変換し、そのときの化学平衡状態で決定される自然電位の検出を行っている。化学反応膜はフェロセン誘導体 (11-FUT : 11-Ferrocenyl-1-Undecanethiol) を用いており、酵素としてヘキソキナーゼとグルコース-6-リン酸脱水素酵素を用いている。HK・G-6-PHD 法を使用したグルコース計測結果を図 1.10 示す。図 1.10 の結果から 0.1 mM から 2 mM の間で非常に高い線形を得ている。電流検出は、作用電極の周りを対向電極で囲む微小電極アレイを提案した [16, 17]。これは微小電極を並べただけの構造にした場合、溶液中で拡散層の干渉が起こり隣同士の微小電極の拡散層が重なってしまい、各々の電極の正確な電流を測定することが困難であった。そこで、作用電極の周りに対向電極を作製することを提案した。この提案した構造は、対向電極の作用電極と反対の反応を示すことを利用し拡散層を作用電極付近に閉じ込めるためこと

が可能である。従って、隣接する微小電極の拡散層が重なることなく測定できる（図 1.11）。従来のアレイ電極と提案したアレイ電極の電流応答の比較結果を図 1.12 に示す。図 1.12 から、従来の電極アレイでは 100 秒経過しても定常電流が得られないのに対し、提案した電極では定常電流が得られており化学物質の定量評価が可能となっている。インピーダンス検出は、低周波（1 kHz 以下）における電極-溶液界面の電気 2 重層の容量測定と中間周波数（1 kHz～1 MHz）における電気 2 重層の容量と抵抗成分の測定する回路を作製した。電極上に細菌やウイルスの捕獲膜を形成し、その捕獲膜に細菌やウイルスが捕獲されることにより電極の実効面積が減少する。そのため、キャパシタンス成分が減少し、抵抗成分が増大するため細菌やウイルスの検出が可能となる。

また、Estrela らは微分パルスボルタンメトリーとインピーダンス分光法、直接回路電位測定 of 電気化学センサ技術の集積化を提案した [18]。そして、キナーゼ活性の阻害剤をスクリーニングするための複数の検出技術を同一チップ（図 1.13）に集積化することが可能であることを証明した。

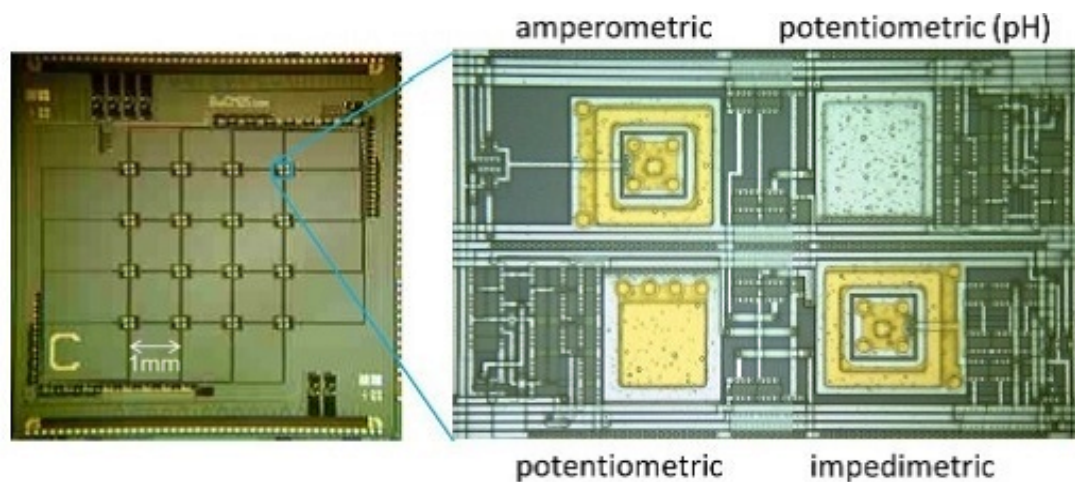


図 1.9: 集積化電気化学マルチモードセンサ [13]

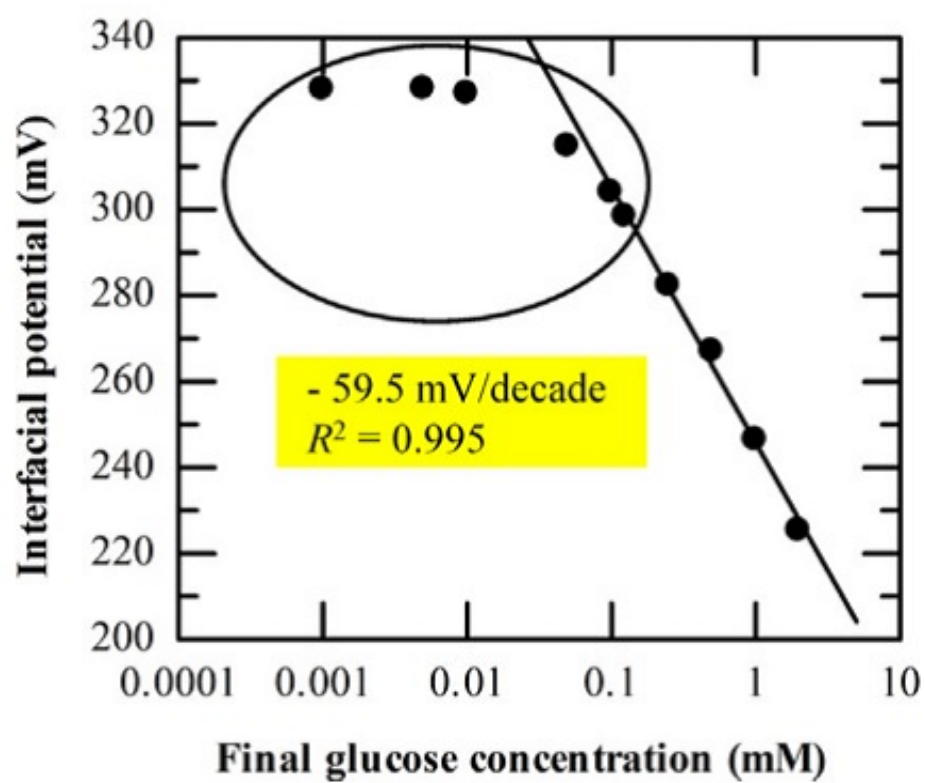


図 1.10: グルコースの濃度依存性 [14]

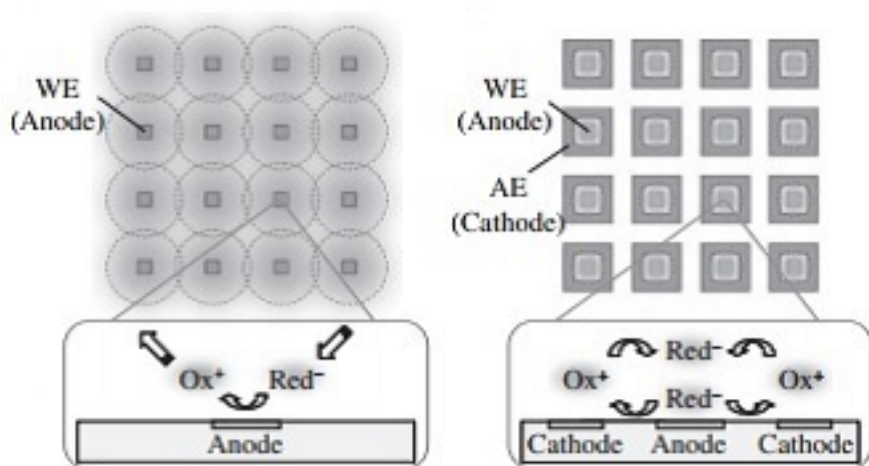


図 1.11: 微細構造に対する拡散層の影響 [16]

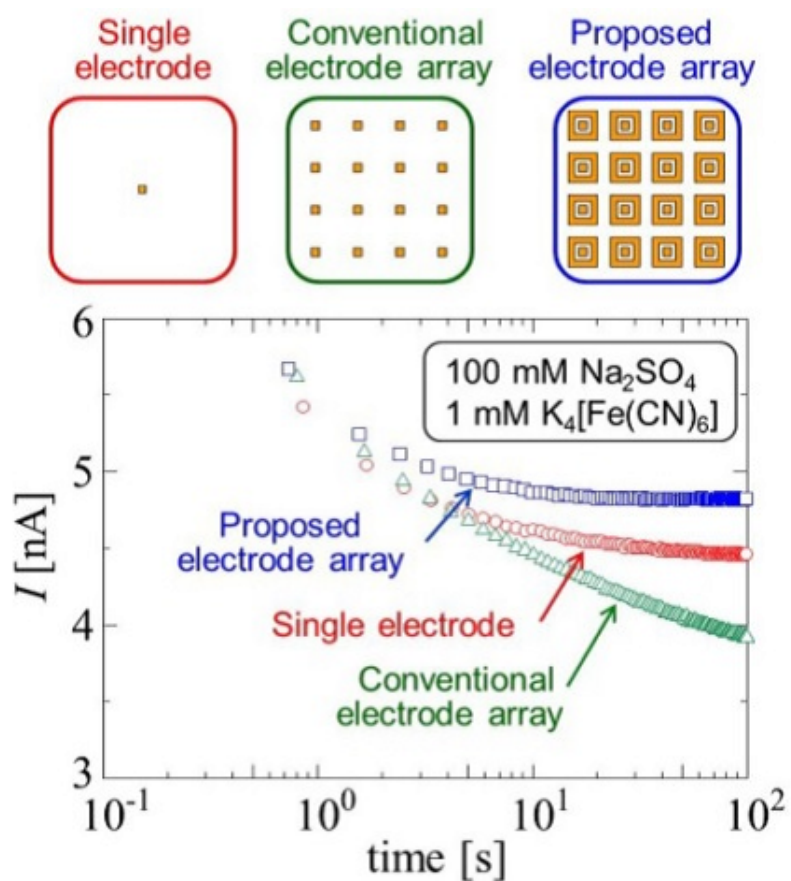


図 1.12: 提案した構造における電流応答 [16]

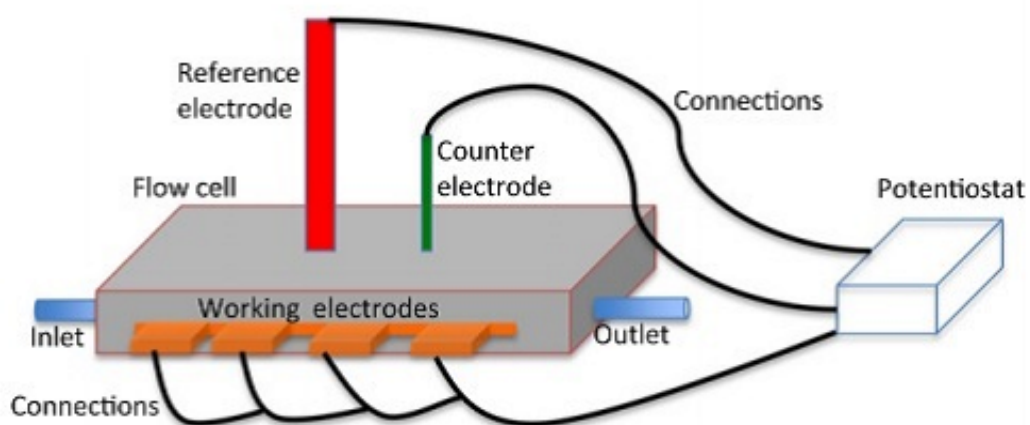


図 1.13: 集積化電気化学マルチモーダルセンサの模式図 [18]

### 1.1.2 電気化学イメージセンサ

電気化学イメージセンサの研究動向を説明する．電気化学イメージセンサとは，電気化学反応によって得られる信号（酸化還元電流，イオン電流など）を可視化するセンサである．電気化学イメージングは，走査型電気化学顕微鏡（SECM：Scanning electro-chemical microscopy）と 1 チップ上に多数の電極を配置するアレイ化の 2 つが用いられる．

SECM は，サンプル近傍で微小なプローブを走査し，そのプローブから得られた位置情報と酸化還元電流またはイオン電流値から，サンプルの電気化学イメージングを行う．SECM の空間分解能はプローブ電極サイズに依存することから，近年直径が nm サイズの電極プローブが開発されている [19–21]．Northwestern University の Hersam らは Sutter Instrument 社のガラス電極作製装置を使用し，ガラスピペット（内径：0.5 mm，外径：1 mm，Sutter Instrument 社）を内径 100 nm，外径 200 nm まで引き伸ばした微小プローブを作製した（図 1.14 A）．その後，5 nm の Ti と Au を 200 nm から 250 nm を EB 蒸着し（図 1.14 B），その上に  $\text{Al}_2\text{O}_3$  を 70 nm から 100 nm 絶縁層として覆い（図 1.14 C），最後に FIB 装置により先端の Au を露出させた（図 1.14 D）．最終的な外径は 294 nm でナノピペットの先端は直径 100 nm である．図 1.15 に幅 10  $\mu\text{m}$  の Au 電極に 10 mM のフェリシアン化カリウムと 100 mM KCl 溶液を滴下した時の電気化学イメージング結果を示す．図 1.15 のように，フェリシアン化カリウムを滴下した箇所が鮮明に観察できる．しかしながら，SECM はプローブ操作に時間がかかってしまいリアルタイム計測やハイスループットな計測には不向きである．

電極をアレイ化する方法は，SECM に比べプローブを走査することがないためリアルタイム計測やハイスループットな計測が可能である．アレイ化の場合，空間分解能を高くするためには電極数を増やす必要がある．しかしながら，チップから信号を取得するために必要なパッド数には制限があり，チップに集積化できる電極数には限界がある．そこで末永らは，1 チップに多くの電極を配置する提案として，電極と電極が立体的に交差した配置における電気化学イメージングシステムを提案した [22–24]．これは図 1.16 のように酸化電極（黒色），還元電極（赤色）を SU-8（水色）で支える構造になっている．この配置にすることにより， $2n$  個のパッドで  $n^2$  の測定点にすることが可能である．図 1.17 に計測方法を示す．最初に酸化電極と還元電極を酸化還元反応しない電位に設定する．次に，還元電極のみ電位を変化させる．この時，酸化還元反応を行う物質があった場合，酸化還元反応に由来する電子の授受を酸化電極で測定することができる．測定後，次の還元電極の電位を変化させる．この一連のサイクルを繰り返すことにより化学物質のイメージングを行っている．この方法は電極を 2 組作製し重ねた構造をしているため，デバイス内に大きなサンプルの導入が困難であったが，電極形状を改良し 1 枚のガラス基板上での測定を可能にし，電極数が 1024 個，センサ間隔が 200  $\mu\text{m}$  のハイスループットな電気化学イメージングを実現している [23]．



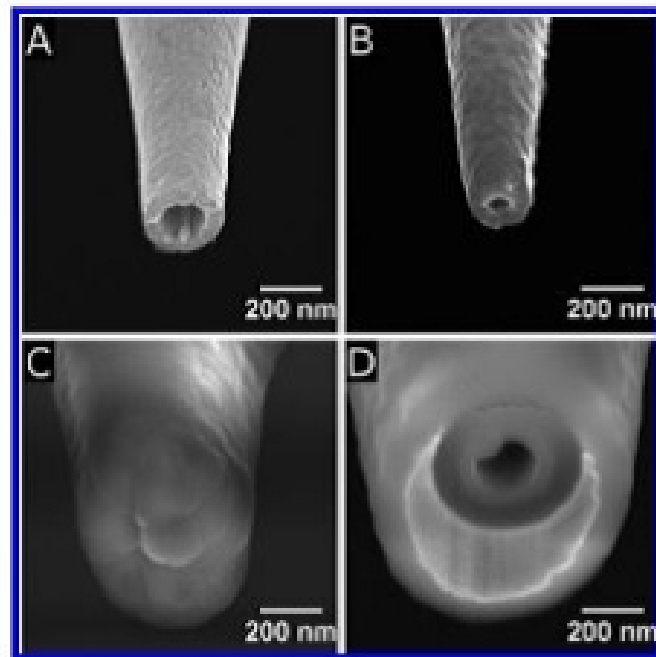


図 1.14: ナノピペットの SEM 写真 [19]

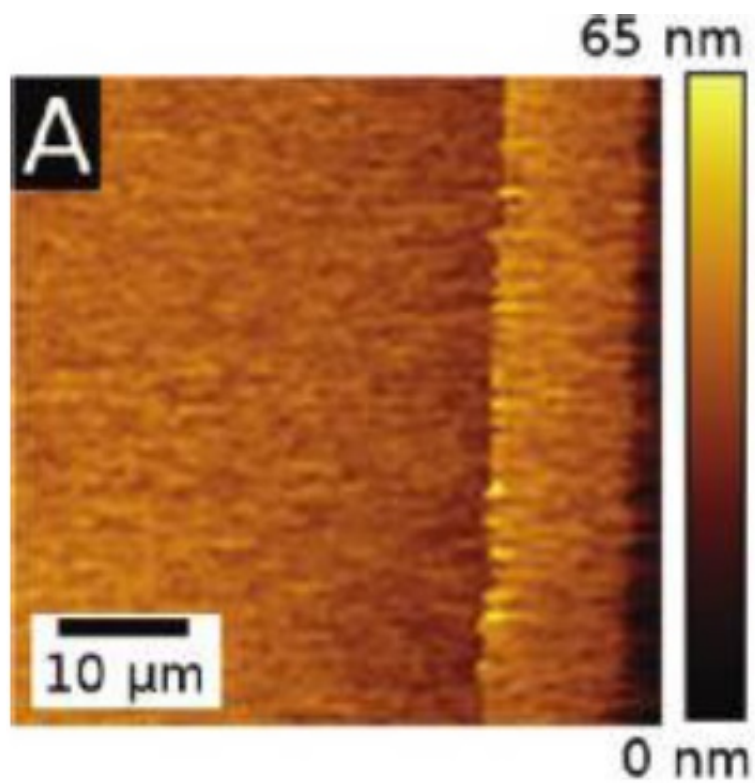


図 1.15: SECM の結果画像 [19]

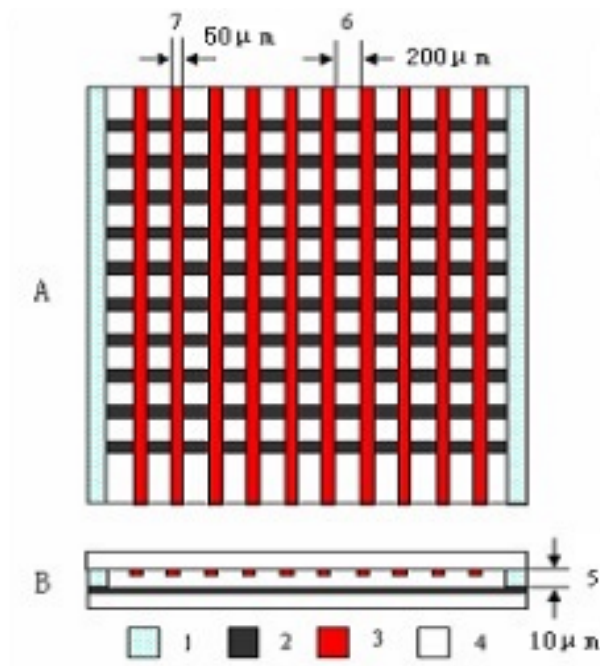


図 1.16: 電気化学イメージングシステムの設計図 [24]

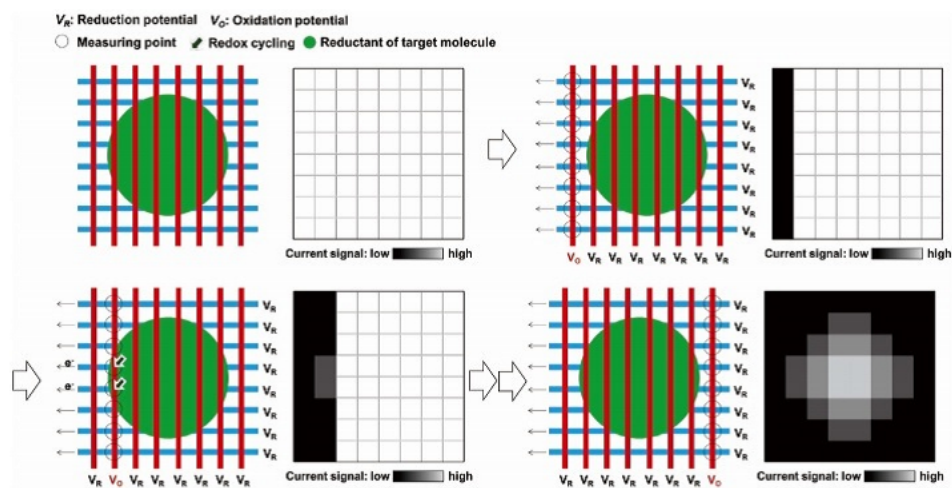


図 1.17: 電気化学イメージングシステムの動作方法 [24]

### 1.1.3 電気化学マイクロセンシングデバイス

電気化学マイクロセンシングデバイスについての研究動向について述べる．電気化学マイクロセンシングデバイスとは分析に必要な機能を集積化した微小化学分析システム ( $\mu$ -TAS : Micro Total Analysis Systems) と電気化学センサを組み合わせたものである． $\mu$ -TAS の分野では、検出器、流路や反応器等が集積化されたデバイスが開発されており、測定時間の短縮や化学物質の複数同時検出が可能となる．図 1.18 に示したデバイスは生体内のグルタミン酸の測定を目指した電気マイクロセンシングデバイスの構造である [28]．反応器と流路の役割を担う幅 12.5 mm、長さ 30 mm のガラス基板 (図 1.18(a)) と電極系を形成したガラス基板 (図 1.18(b)) とを組み合わせた構造 (図 1.18(c)) となっている．図 1.18(d) は断面図でありマイクロピラーからなる反応器と各々の電極順に送液を行う．このデバイスでは、グルタミン酸を流路に 2  $\mu$ l/min で流し 44 秒という短時間で 1  $\mu$ M のグルタミン酸の検出に成功している．また、グルタミン酸の検出限界としては、100 nM とラット脳内のグルタミン酸の濃度 (1~5  $\mu$ M) の検出が可能であると報告されている．電気化学マイクロセンシングデバイスはグルタミン酸のみならず、DNA [29]、アミン類 [30] の検出例も報告されている．

電気化学マイクロセンシングデバイスは前述したように測定時間の短縮や化学物質の複数同時検出という特徴を持っているが、微小構造体になるため電極から得られる電流が小さくなることが知られている．そのため、図 1.19 のような櫛歯構造を形成した電極を用いることで酸化還元サイクルを繰り返すことで電流を増幅し、高感度に測定する対策が取られる [31]．

このように、電気化学センサはマルチモーダル化やイメージング化、微細化など半導体技術を利用することで様々な高機能化を実現することができる．



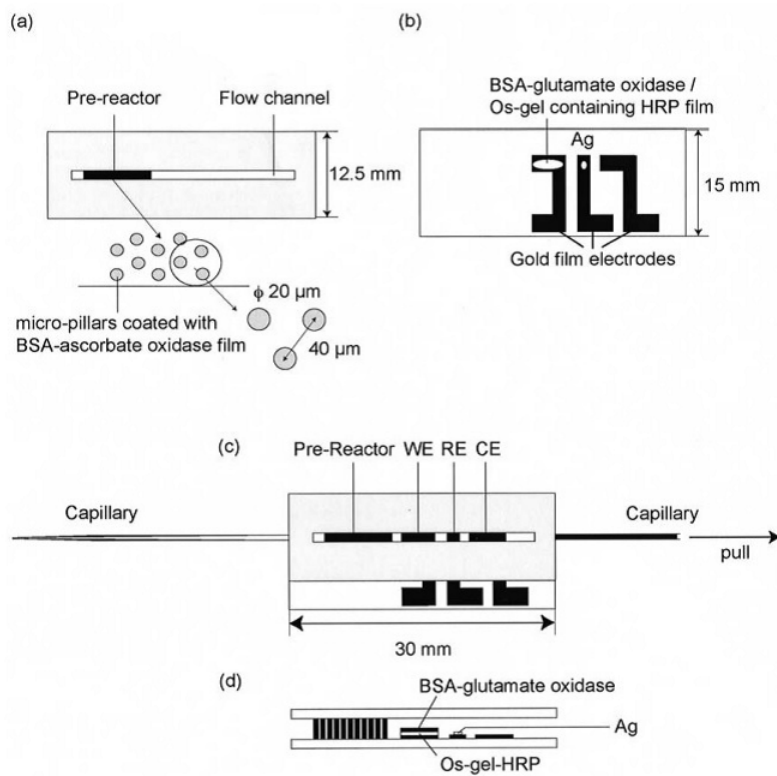


図 1.18: 電気マイクロセンシングデバイスの構造 [28]

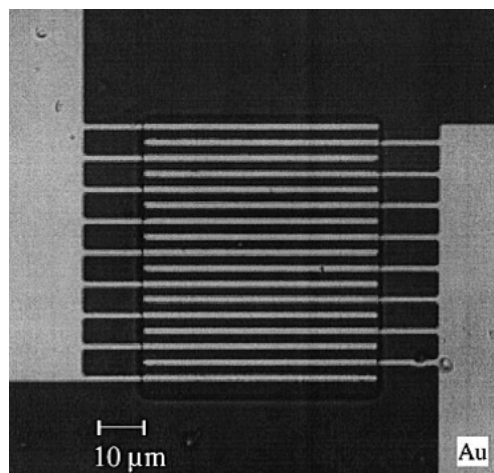


図 1.19: 櫛歯電極 [31]

## 1.2 バイオセンサへの応用

本節では、電気化学センサをバイオセンサとして応用した例について述べる。近年、健康や食の安全、環境問題などの関心の高まりを背景に、その場で簡便に測定できるセンサが必要とされてきている [32]。例えば、医療分野においては、簡易計測が可能になることによって患者が自ら行える検査である POC (Point of care) 検査が普及しており、迅速性を求められるもの、緊急性のあるもの、自宅でも経過観察可能な計測器への応用が期待されている。バイオセンサとして使用されている代表的なものに糖尿病患者の使用する血糖値センサが挙げられる。この血糖値センサはすでに市販されており、図 1.20 に示すように小型で簡易的に血糖値の測定することができる [33]。市販の血糖値センサは 5 秒から 15 秒で結果を知ることができ、デバイス自体の大きさも 10 cm 以下のものが発売されている。血糖値センサはグルコースに対する酵素反応を用いて電気的に検出を行っており、酵素を用いた検出方法についての詳細は第 5 章で述べる。酵素を用いる特徴としては、特定の物質を選択的に測定することが可能となる点である。今回、例に挙げたグルコースの場合は、グルコースオキシダーゼという酵素をよく用いるが、酵素を変更することでドーパミン [34]、グルタミン酸 [35]、コレステロール [36] など他にも様々な化学物質を検出することが可能である。また、他に市販されているデバイスとして、アルファメッドサイエンティフィック社が発売している点細胞外電位記録システム (MED64) がある [37]。これは、測定器とセンサ部が分離した構造となっており、センサ部には 64 個の電極アレイが形成されている。このデバイスの特徴は、電極上に組織切片を載せるだけで (あるいは細胞を培養して)、細胞外電位が測定できるという簡便性が特徴である。そのため、電気生理学未経験者でも簡単に測定することができるため、近年創薬スクリーニングへ応用されている。

このように、電気化学センサは半導体技術を使用し集積化することによって、小型で簡便な今までの電気化学センサでは実現できなかったことが可能となる。

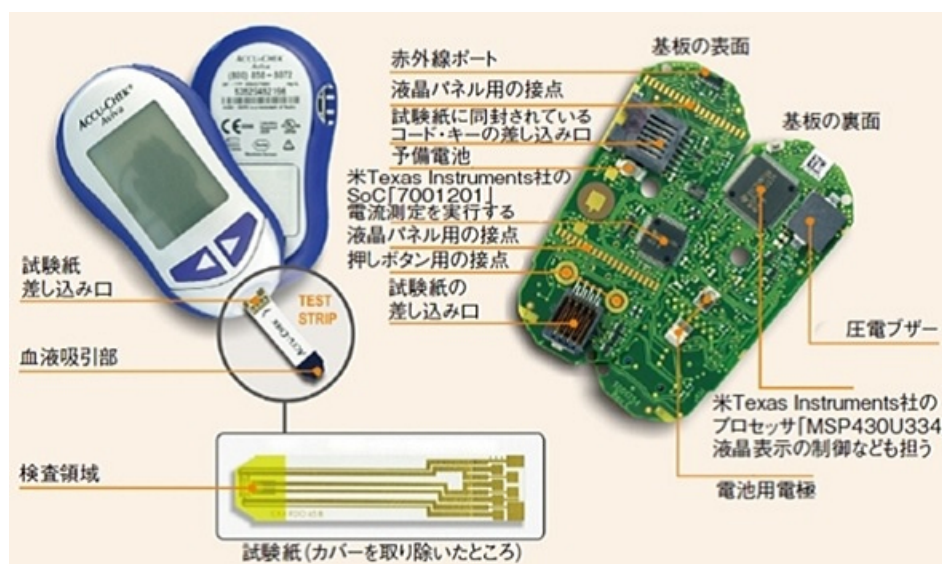


図 1.20: 市販の血糖値センサ (Roche Diagnostics 社 : ACCU-CHEK Aviva) [33]

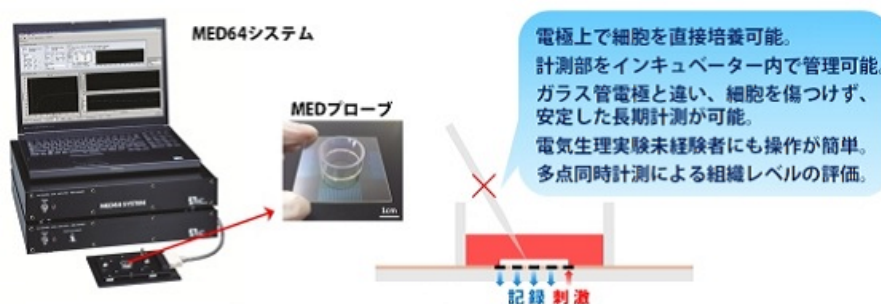


図 1.21: 点細胞外電位記録システム (アルファメッドサイエンティフィック社: MED64) [37]

### 1.3 現場計測に向けた集積化電気化学センサについて

本節では、現場計測に向けた集積化電気化学センサについて述べる。現場計測では、小型化、低濃度の化学物質の検出可能および簡易にリアルタイム測定できることが要求される。前述したように、近年、電気化学センサは集積化することによって小型化が進められており、測定する場所に制限がなく化学物質の検出が可能である。しかしながら、電気化学センサは化学物質の濃度またはセンシングエリアと測定電流（酸化還元電流）との間に比例関係がある。従って、微小電極による低濃度の化学物質の検出には小さな電流を測定することが求められる。また、電気化学測定では、低周波数の電圧を印加し化学物質の検出を行っているものが主であり、先の条件に加えて低周波ノイズの影響が小さいことが要求される [38]。しかし、計測器は高感度・低ノイズになるほど装置の規模が大きくなってしまいうため現場計測を実現する上で課題となる。また、低周波ノイズを低減させるために MOSFET を用いたノイズキャンセリング [39] 回路を集積化した研究が行われているが、回路規模が増えるためチップサイズが大きくなってしまい、1 ウェハあたりのチップ数が減少してしまうため安価で大量生産ができる半導体技術の特徴が損なわれる。

そのため本研究では、半導体技術を利用し電気化学センサに増幅機能を付与することを提案した。増幅機能を付与することによって、実環境におけるセンサと計測器間の外乱ノイズの影響を考慮する必要がなくなり、小型計測器による測定が達成でき、現場測定に適したセンサが実現可能となる。図 1.22 に現場計測の概念図を示す。電気化学測定を現場応用する上で低濃度の化学物質を検出する場合、電極-測定器間の配線ノイズなどの環境ノイズによって酸化還元電流が埋もれてしまうという問題が考えられる。従って、環境ノイズ以下の酸化還元電流の測定ができない問題が考えられる。そこで、電気化学センサに増幅機能を付加することで、酸化還元電流を測定器との配線前に増幅するプリアンプの機能を持たせることにより、環境ノイズより大きな酸化還元電流を流すことができるため、環境ノイズ以下の酸化還元電流の測定が可能となる。また、増幅機能を付加することで、低濃度測定の場合の電流に対しての増幅にもなるため、小型な計測器による測定が達成できると考えられる。

### 1.4 本研究の目的

本研究では、電気化学センサの集積化や高機能化が進む中、現場計測用途に適した集積化電気化学センサの作製を目的とした。また、低周波ノイズの影響が少なく、チップ面積を増大させることない集積化電気化学センサを実現することを目的とする。そこで、本研究では、半導体技術と

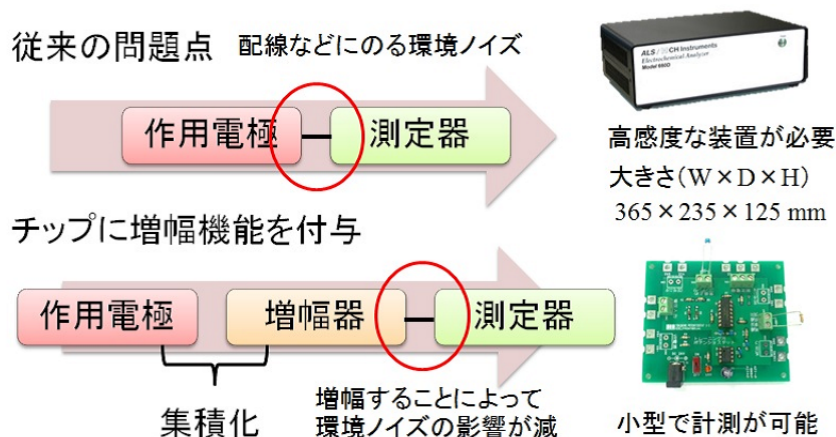


図 1.22: 現場計測概念図

物質の酸化還元反応を利用した電気化学センサである酸化還元センサを融合した増幅型酸化還元センサを提案した。増幅型酸化還元センサは電流増幅素子であるバイポーラトランジスタとセンシングエリアである作用電極を一体化した構造をしており、チップ面積を増大させることなく、作用電極からの酸化還元電流を単素子で直接増幅できる特徴を有している。MOSFETを増幅回路として用いている酸化還元センサは先行研究[40]であったが、電流を計測するためには、MOSFETを複数素子用いたオペアンプを用いて計測する必要があるため回路規模が大きくなる。また、バイポーラトランジスタはMOSFETに比べ、フリッカーノイズの影響が小さいため、低周波領域の測定が主である電気化学測定においてバイポーラトランジスタにより増幅することによって、MOSFETにより増幅することに比べ検出限界の向上が期待できると考えた。

現場計測用途に適した小型でかつ簡易的な集積化電気化学センサを実現することで、環境分野においては工場から排出される微量の重金属の測定、農業分野では植物の栄養分の分析、医療分野では介護用途での非侵襲型生体情報モニタリングなど幅広い現場計測への応用に貢献できると考えられる。また、バイポーラトランジスタにより測定電流を増幅できるため増幅度を100倍とすると同じ電流値でセンシングエリアの面積が1/100にすることができる。そのため、微小領域の作用電極からの電流の取得が可能になり、アレイ化することで今まで実現できなかった空間分解能の高いバイオイメージングが可能となる。従って、細胞の新たな生理現象の解明などに貢献できると考えられる。

本稿において、第2章では、本研究で用いた酸化還元反応から化学物質の検出を行う酸化還元センサについて述べる。第3章では、本研究で開発した増幅型酸化還元センサについて述べる。第4章では増幅型酸化還元センサの改善と低ノイズ評価における検出限界の評価について述べる。第5章では、アプリケーション応用として増幅型酸化還元センサによるグルコース応答結果について述べる。第6章では、研究の総括を述べ、今後の課題を示す。

## 参考文献

- [1] 大堺利行, 加納健司, 桑畑進, ベーシック電気化学, 化学同人, 2000.
- [2] M. Pleitez, H. Von Lilienfeld-Toal, and W. Mantele, “Infrared spectroscopic analysis of human interstitial fluid in vitro and in vivo using FT-IR spectroscopy and pulsed quantum cascade lasers (QCL): Establishing a new approach to non invasive glucose measurement,” *Spectrochim. Acta - Part A Mol. Biomol. Spectrosc.*, vol. 85, no. 1, pp. 61-65, 2012.
- [3] 村上 和雄, 掛本 道子, 原田 敏勝, 山田 約瑟, “固定化酵素リアクターを用いた高速液体クロマトグラフィーによるグルコースの定量,” *分析化学*, vol. 40, pp. 125-129, 1991.
- [4] エネルギー分散型蛍光 X 線分析装置, 島津製作所: <http://www.shimadzu.co.jp/>
- [5] 高速液体クロマトグラフ, 島津製作所: <http://www.shimadzu.co.jp/>
- [6] G. Hanrahan, D. Patil, and J. Wang, “Electrochemical sensors for environmental monitoring: design, development and applications,” *J. Environ. Monit.*, vol. 6, no. 8, pp. 657-664, 2004.
- [7] R. F. B. Turner, D. J. Harrison, and H. P. Baltes, “A CMOS potentiostat for amperometric chemical sensors,” *IEEE J. Solid-State Circuits.*, vol. 22, no. 3, pp. 473-478, 1987.
- [8] J. Zhang, Y. Huang, N. Trombly, C. Yang, and A. Mason, “Electrochemical array microsystem with integrated potentiostat,” *Proc. IEEE Sensors.*, pp. 385-388, 2005.
- [9] T. Yamazaki, T. Ikeda, M. Ishida, and K. Sawada, “Compact Electrochemical System Using On-Chip Sensor Electrodes and Integrated Devices,” *Jpn. J. Appl. Phys.*, vol. 50, no. 4, pp. 04DL02-1 - 04DL02-4, 2011.
- [10] T. Yamazaki, T. Ikeda, B. Lim, K. Okumura, M. Ishida, and K. Sawada, “Smart integrated sensor for multiple detections of glucose and L-lactate using on-chip electrochemical system,” *J. Sensors.*, 2011.
- [11] B. Lim, M. Futagawa, S. Takahashi, F. Dasai, M. Ishida, and K. Sawada, “Integrated  $8 \times 8$  array redox sensor system employing on-chip square wave voltammetric circuit for multi point and high-speed detection,” *Jpn. J. Appl. Phys.*, vol. 53, no. 4, pp. 046502-1 -046502-5, 2014.
- [12] B. Lim, M. Futagawa, S. Takahashi, F. Dasai, M. Ishida, and K. Sawada, “On-chip square wave voltammetric pulse generator for redox measurement employing array structure,” *Biomedical Circuits and Systems Conference (BioCAS).*, pp.113 - 116, 2014.

- [13] K. Nakazato, "Potentiometric, Amperometric, and Impedimetric CMOS Biosensor Array," *State Art Biosens. Gen. Asp.*, pp. 163 - 177, 2013.
- [14] M. Kamahori, Y. Ishige, and M. Shimoda, "Enzyme immunoassay using a reusable extended-gate field-effect-transistor sensor with a ferrocenylalkanethiol-modified gold electrode," *Anal. Sci.*, vol. 24, no.9, pp. 1073-1079, 2008.
- [15] H. Anan, M. Kamahori, Y. Ishige, and K. Nakazato, "Redox-potential sensor array based on extended-gate field-effect transistors with  $\omega$ -ferrocenylalkanethiol-modified gold electrodes," *Sensors Actuators B Chem.*, vol. 187, pp. 254-261, 2013.
- [16] J. Hasegawa, S. Uno, and K. Nakazato, "Amperometric Electrochemical Sensor Array for On-Chip Simultaneous Imaging: Circuit and Microelectrode Design Considerations," *Jpn. J. Appl. Phys.*, vol. 50, no. 4, pp. 04DL01-1 - 04DL01-7, 2011.
- [17] K. Nakazato, "Chemistry integrated circuit: chemical system on a complementary metal oxide semiconductor integrated circuit," *Philos. Trans. R. Soc. A Math. Phys. Eng. Sci.*, vol. 372, 2014.
- [18] N. Formisano, N. Bhalla, L. C. Caleb Wong, M. Di Lorenzo, G. Pula, and P. Estrela, "Multimodal electrochemical and nanoplasmonic biosensors using ferrocene-crowned nanoparticles for kinase drug discovery applications," *Electrochem. commun.*, vol. 57, pp. 70-73, 2015.
- [19] R. D. Lowe, R. C. Mani, R. P. Baldwin, and M. K. Sunkara, "Nanoelectrode Ensembles Using Carbon Nanopipettes," *Electrochem. Solid-State Lett.*, vol. 9, no. 6, pp. H43-H47, 2006.
- [20] D. J. Comstock, J. W. Elam, M. J. Pellin, and M. C. Hersam, "Integrated Ultramicroelectrode Nanopipet Probe for Concurrent Scanning Electrochemical Microscopy and Scanning Ion Conductance Microscopy," *Anal. Chem.*, vol. 82, no. 4, pp. 1270-1276, 2010.
- [21] Y. Takahashi, A. Kumatani, H. Munakata, H. Inomata, K. Ito, K. Ino, H. Shiku, P. R. Unwin, Y. E. Korchev, K. Kanamura, and T. Matsue, "Nanoscale visualization of redox activity at lithium-ion battery cathodes," *Nat. Commun.*, vol. 5, p. 5450, 2014.
- [22] X. Zhu, K. Ino, Z. Lin, H. Shiku, G. Chen, and T. Matsue, "Amperometric detection of DNA hybridization using a multi-point, addressable electrochemical device," *Sensors Actuators B Chem.*, vol. 160, no. 1, pp. 923-928, 2011.
- [23] K. Ino, W. Saito, M. Koide, T. Umemura, H. Shiku, and T. Matsue, "Addressable electrode array device with IDA electrodes for high-throughput detection," *Lab Chip*, vol. 11, no. 3, pp. 385-388, 2011.
- [24] K. Ino, T. Nishijo, T. Arai, Y. Kanno, Y. Takahashi, H. Shiku, and T. Matsue, "Local Redox-Cycling-Based Electrochemical Chip Device with Deep Microwells for Evaluation of Embryoid Bodies," *Angew. Chemie*, vol. 124, no. 27, pp. 6752-6756, 2012.



- [25] T. Tokuda, K. Tanaka, M. Matsuo, K. Kagawa, M. Nunoshita, and J. Ohta, "Optical and electrochemical dual-image CMOS sensor for on-chip biomolecular sensing applications," *Sensors Actuators A Phys.*, vol. 135, no. 2, pp. 315-322, 2007.
- [26] P. Kruppa, A. Frey, I. Kuehne, M. Schienle, N. Persike, T. Kratzmueller, G. Hartwich, and D. Schmitt-Landsiedel, "A digital CMOS-based  $24 \times 16$  sensor array platform for fully automatic electrochemical DNA detection," *Biosens. Bioelectron.*, vol. 26, no. 4, pp. 1414-1419, 2010.
- [27] O. Koster, W. Schuhmann, H. Vogt, and W. Mokwa, "Quality control of ultra-microelectrode arrays using cyclic voltammetry, electrochemical impedance spectroscopy and scanning electrochemical microscopy," *Sensors Actuators B*, vol. 76, no.1-3, pp. 573-581, 2001.
- [28] K. Hayashi, R. Kurita, T. Horiuchi, and O. Niwa, "Selective detection of L -glutamate using a microfluidic device integrated with an enzyme-modified pre-reactor and an electrochemical detector," vol. 18, no.10, pp. 1249-1255, 2003.
- [29] J. Han and H. G. Craighead, "Separation of Long DNA Molecules in a Microfabricated Entropic Trap Array," vol. 288, no.5468, pp. 1026-1029, 2000.
- [30] C. Cakal, J. P. Ferrance, and J. P. Landers, "Development of a micro-total analysis system ( $\mu$ -TAS ) for the determination of catecholamines," pp. 1909-1917, 2010.
- [31] R. Kurita, H. Tabei, Z. Liu, T. Horiuchi, and O. Niwa, "Fabrication and electrochemical properties of an interdigitated array electrode in a microfabricated wall-jet cell," vol. 71, no.1, pp. 82-89, 2000.
- [32] 民谷栄一, バイオセンサーの先端科学技術と応用, CMC 出版, 2007.
- [33] ACCU-CHEK Aviva, Roche Diagnostics 社 : <https://www.accu-chek.com/us/glucose-meters/aviva.html>
- [34] K. Yoshimi, Y. Naya, N. Mitani, T. Kato, M. Inoue, S. Natori, T. Takahashi, A. Weitemier, N. Nishikawa, T. McHugh, Y. Einaga, and S. Kitazawa, "Phasic reward responses in the monkey striatum as detected by voltammetry with diamond microelectrodes," *Neurosci. Res.*, vol. 71, no. 1, pp. 49-62, 2011.
- [35] C. A. Marquette, A. Degiuli, and L. J. Blum, "Electrochemiluminescent biosensors array for the concomitant detection of choline, glucose, glutamate, lactate, lysine and urate," *Biosens. Bioelectron.*, vol. 19, no. 5, pp. 433-439, 2003.
- [36] L. C. S. Chou and C.C. Liu, "Development of a molecular imprinting thick film electrochemical sensor for cholesterol detection," *Sensors Actuators B Chem.*, vol. 110, no. 2, pp. 204-208, 2005.
- [37] MED64 システム, Alpha MED Scientific Inc : <http://www.med64.com/>

- [38] Dongsoo Kim, B. Goldstein, Wei Tang, F. J. Sigworth, and E. Culurciello, “Noise analysis and performance comparison of low current measurement systems for biomedical applications,” *IEEE Trans. Biomed. Circuits Syst.*, vol. 7, no. 1, pp. 52-62, 2013.
- [39] V. Balasubramanian, P. F. Ruedi, Y. Temiz, A. Ferretti, C. Guiducci, and C. C. Enz, “A 0.18  $\mu\text{m}$  biosensor front-end based on 1/f noise, distortion cancelation and chopper stabilization techniques,” *IEEE Trans. Biomed. Circuits Syst.*, vol. 7, no. 5, pp. 660-673, 2013.
- [40] W. Sansen, A. Claes, D. De Wachter, L. Callewaert, and M. Lambrechts, “A smart sensor for biomedical applications,” *Images Twenty-First Century. Proc. Annu. Int. Eng. Med. Biol. Soc.*, pp. 1088-1089, 1989.



## 第2章 酸化還元センサの測定原理

### 2.1 はじめに

電気化学分野において、化学物質の酸化還元反応を利用し物質の種類や濃度を電気信号に変換して計測を行うセンサが酸化還元センサである。酸化還元センサの特徴は感度、応答性、小型化に優れている点である。そのため、水の品質を計測するセンサ [1,2]，工場排水の重金属であるカドミウム [3-7]，銅 [8] を計測するセンサ，血液中の血糖値を計測するセンサ [9-14] など多岐にわたる応用がされている。これらの計測では、電気化学センサの中の酸化還元反応から化学物質を検出する酸化還元センサがよく用いられる。

酸化還元センサを使用する場合、一般に電気化学測定法が用いられる。電気化学測定法は電極表面に生じる酸化還元反応を精度良く計測するための測定法である。本章において、酸化還元センサの測定環境、一般的に用いられる電気化学測定法を説明し、集積化した酸化還元センサへの課題について述べる。

### 2.2 酸化還元センサの測定環境

酸化還元センサの測定には電極系として、作用電極 (WE : Working Electrode)，対向電極 (CE : Counter Electrode)，参照電極 (RE : Reference Electrode) の3つの電極と、測定系として2電極法と3電極法が用いられる。次項において、酸化還元センサに必要なそれぞれの電極の役割について述べる。

#### 2.2.1 酸化還元測定に必要な電極の役割

酸化還元センサを用いて電気化学測定を行うためには以下の電極が必要である。

- 酸化還元反応の際の電流を測定する電極
- 溶液に酸化還元反応を行う電位を与える電極
- 測定する際の溶液電位を測定する電極

そのため、化学物質の酸化還元反応の検出には、2種類または3種類の電極を用いる。電極はそれぞれ、作用電極、対向電極、参照電極と呼ばれる。これらの役割を説明する。

作用電極は、酸化還元反応の際の電流を測定する電極である。従来、作用電極には滴下水銀電極 (図 2.1) が最もよく使用されていた。滴下水銀電極以外の電極は、電極と液体の間に電流を流すことで分極が起これ、溶質が電極に付着してしまうため、電極表面の反応が変化してしまうためである。滴下水銀電極は電極となるガラス毛细管から水銀を滴下することによって、電極先端が常に保たれるため安定した反応を得ることができる。しかしながら、水銀廃液処理が容易ではないことや、測定できる電位範囲 (電位窓) が正電位領域において酸化還元反応する化学物質には

適用できないという問題がある．そこで，貴金属電極や炭素電極などの固体電極が使用されるようになった．

貴金属電極や炭素電極は化学的に安定な材料である．貴金属電極や炭素電極は化学的に安定なため，溶質が電極に付着することによる電極表面の反応に変化がない．そのため，現在使用されている作用電極の材料は貴金属電極や炭素電極が主である．代表的な作用電極を表 2.1 に示す．作用電極の選定基準の一つに電位窓がある．電位窓とは，溶媒や支持電解質が電極と電子の授受を行わない範囲の電位であり，電極に電位をかけたとき溶媒や支持電解質に起因する電流が流れない電位範囲である．

そのため，作用電極には分極性を示す材料を用いる．図 2.2 に Pt，炭素電極，水銀滴下電極の溶液中における電位窓 [16] をまとめたものを示す．電位窓の正端は，電極自身の酸化反応を起こす電位で決まり，この電位を酸素過電圧と呼ぶ．電位窓の負端は，電極自身の還元反応を起こす電位で決まり，水素過電圧と呼ぶ．これらの電位窓は，pH によっても変化することが知られている．これは溶液中の水素イオンの量が変わることによって，水の還元反応する電位が変化するためである．そのため，測定対象に合った作用電極を選ぶことが重要である本研究では，以下の理由より Pt を用いた．

- 貴金属なため，安定して酸化還元反応を測定可能
- 集積化が容易

対向電極は，3 電極系で測定を行う際に必要な電極であり，対向電極は作用電極とは逆の反応を示す．対向電極を挿入することにより，作用電極とは逆の酸化還元反応が生じる．例えば，作用電極上で酸化反応が生じたと仮定すると，対向電極では還元反応が生じる．その結果，作用電極が電子を放出（酸化反応）する速度と同程度の速度で対向電極上では電子を受け取る（還元反応）ことができる．このように，酸化還元反応の閉ループを形成することで安定した化学物質の検出が可能となる．一般的に，対向電極は作用電極よりも電極面積を大きくする必要がある．これは，対向電極の面積が作用電極よりも小さい場合，酸化還元反応が対向電極で律速してしまい，作用電極上での酸化還元反応が制限されるためである．そのため，対向電極は作用電極より大きい電極を用いる必要がある．また，作用電極と参照電極との間に電流  $i$  が流れるとき，溶液抵抗を  $R$  とすると， $iR$  の電圧降下が起こり ( $iR$  ドロップ)，設定した電圧が作用電極に印加されないという問題が生じる．特に，溶液抵抗の大きい非水系の溶媒で  $iR$  ドロップに対する対策が必要である． $iR$  ドロップに関しては回路的な補償もしくは作用電極と参照電極の配置を近づけることで影響を少なくすることが可能である．従って，基本は作用電極と対向電極の間に電流が流れることになる．対向電極は作用電極と同様に分極性材料を選択する．詳細は次項で述べるが対向電極を用いることで，参照電極に電流が流れなくなり参照電極を分極させることがなく測定が行える．一般的には，安定で電気化学的挙動がよくわかっている Pt が対向電極として用いられる．本研究では，以下の理由より Pt を用いた．

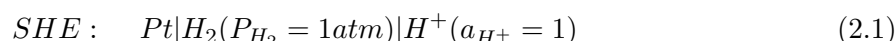
- 貴金属なため，安定して酸化還元反応を測定可能
- 集積化が容易

参照電極は電位の基準となる電極である．従って，電位が常に安定であり，再現性が優れていることが求められる．具体的には，以下の項目が挙げられる [16]

- 貴金属電位が可逆で，ネルンストの式に従う
- 可逆電位が長時間安定であり，再現性が良い

- 非分極性を示す
- 温度変化に対する電位のヒステリシスがない
- 液間電位差が小さい
- 金属と塩から構成されている場合、金属塩の溶解度が小さい
- 作製・取扱が容易

代表的な基準電極としては、標準水素電極 (SHE : Standard Hydrogen Electrode), 飽和カロメル電極 (SCE : Saturated Calomel Electrode), 銀-塩化銀電極 (Ag/AgCl) が知られている。図 2.3(a) に標準水素電極の模式図を示す。SHE は水素イオンの活量  $a_{H^+}$  が 1 の塩酸溶液に白金黒をメッキした白金電極を浸し、水素ガス (圧力  $P_{H_2}=1\text{atm}$ ) を飽和させた構造となっている。このとき、SHE を電池式で表すと



となり、電極反応の反応は次式で表される。



SHE の電極電位  $E$  は以下のように表わされる。

$$E = E^0 - \frac{RT}{F} \ln \frac{P_{H_2}^{1/2}}{(a_{H^+})} \quad (2.3)$$

$E^0$  は SHE の平衡電極電位であり、SHE では式 (2.2) の反応が可逆的に生じるため、電極電位を一定に保つことができる。SHE の平衡電極電位は国際的な規約により、便宜的に 0 V と定義されている。SHE は参照電極の中では、最も高い再現性を持ち、広範囲の温度および pH に対応できる。しかし、水素ガスを使用するため運用が簡便でないことや、酸化剤 ( $O_2$ ,  $Fe^{3+}$ ) や白金に吸着される物質 (シアン化物, 硫化物) が溶液に共存すると電位に影響を及ぼすこともあり、現在はあまり使用されていない。

図 2.3(b) に飽和カロメル電極を示す。SHE に代わってよく用いられる参照電極である。SCE は、水銀と塩化カリウム溶液の間に甘コウ ( $Hg_2Cl_2$ ) と水銀を練り合わせてペースト状にしたものをはさんだ構造となっている。SCE の電極反応は以下ようになる。



この反応の電極電位は以下のように表わされる。

$$E = E^0 - \frac{RT}{F} \ln a_{(Cl^-)} \quad (2.5)$$

$Cl^-$  が関与する反応が可逆性を示すため、 $Cl^-$  の濃度が一定となり、安定した電位を示す。 $a_{(Cl^-)}$  は塩化物イオンの活量であり SCE の電極電位は  $Cl^-$  の濃度により変化するが図 2.3(b) の構造をとることで濃度を一定に保持している。そのため、SCE の平衡電極電位は、0. 244 V(vs. SHE, 25 °C) と決まっている。しかしながら、SCE は重金属イオンである Hg を使用しているため、近年では使用されない。

図 2.3(c) に銀塩化銀 (Ag/AgCl) 電極を示す。SHE, SCE に代わり近年よく用いられており、作製および保存が容易な参照電極である。Ag/AgCl 電極は銀の表面を塩化銀で覆った構造となって

おり，内部に塩化ナトリウムまたは塩化カリウムの飽和溶液を充填した構造である．Ag/AgCl の反応を次式に示す．



この反応の平衡電極電位は式 (2.5) と同じとなる．従って， $\text{Cl}^-$  が平衡電極電位を決定する．内部に充填された塩化ナトリウムまたは塩化カリウムの飽和溶液により，式 (2.6) の反応は可逆性を示し，電極電位は安定する．また，Ag/AgCl 電極の電極電位は，内部の塩化ナトリウムまたは塩化カリウムの濃度により変化する．Ag/AgCl 電極の内部溶液の違いを表 2.2 に示す．そのため，予め  $\text{Cl}^-$  濃度を知っておく必要がある．参照電極も Si 基板上に集積することは可能であるが，長時間の測定に利用するには安定性 [19, 20]，プロセスとの整合性 [21] がまだ不十分である．また，現場計測を行う際，Ag/AgCl 電極の挿入の仕方が問題となってくる．この問題は，電気化学マイクロセンシングデバイスとして計測キット化するなど Ag/AgCl 電極の挿入の仕方を工夫することが考えられる．本研究では，以下の理由より市販の銀-塩化銀電極を用いることにした．

- 電位安定性が高い
- 一般的に使用されている

電気化学測定はこれら 3 つの電極を使用することで測定を行う．次節では，電気化学測定の測定系である 2 電極法と 3 電極法の説明を述べる．

表 2.1: 代表的な作用電極 [16]

種類	材質	特徴
貴金属	Pt, Au, Ag, Pd, Rh, Ir, W	酸素過電圧が一般に高く，酸化反応用の電極に適する．取り扱いやすい
炭素電極	グラッシーカーボン，パイロリティックグラファイト，ベーサルプレーンパイロリティックグラファイト，カーボンペースト，HOPG，炭素繊維	酸化および還元方向の電位窓が広くて使いやすい．化学薬品に安定
水銀電極	滴下水銀電極，吊り下げ水銀電極	水素過電圧が非常に大きく，還元反応用の電極に適している．新しい電極表面の生成が容易．酸化反応を調べるのに適さない
透明電極	Nesa, Nesatoron	光透過性の電極で，分光電気化学測定用に適する
その他の電極	酸化物電極，半導体電極，修飾電極，特殊形態電極	機能性電極とよばれている．

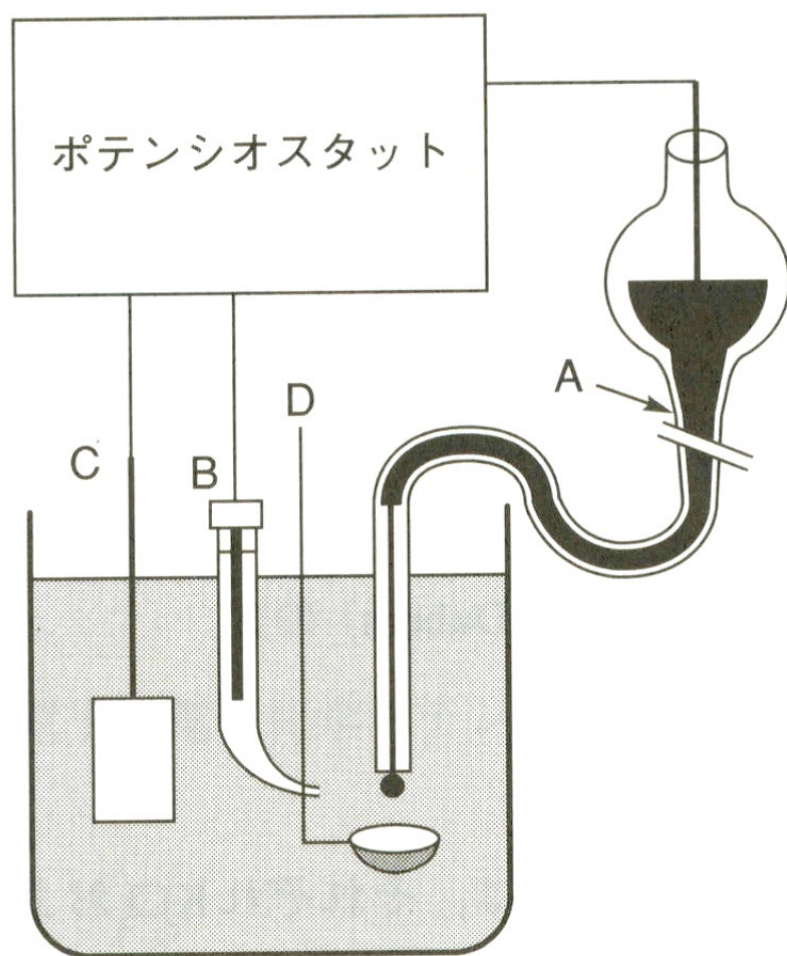


図 2.1: 水銀滴下電極用いた測定系 (A : 水銀滴下電極 B : 参照電極 C : 対向電極) [15]

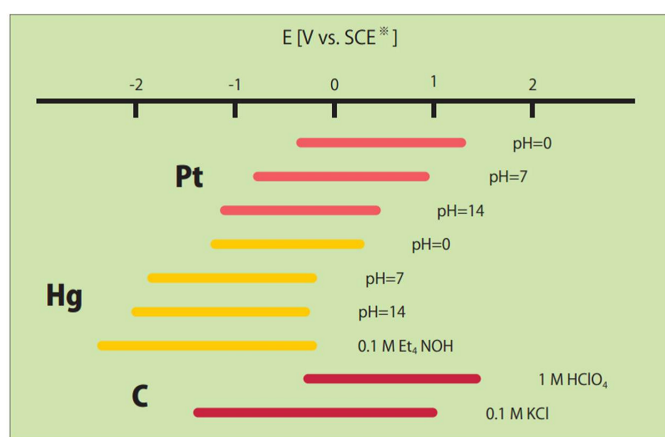


図 2.2: 溶液中におけるさまざまな電極の電位窓 [22]

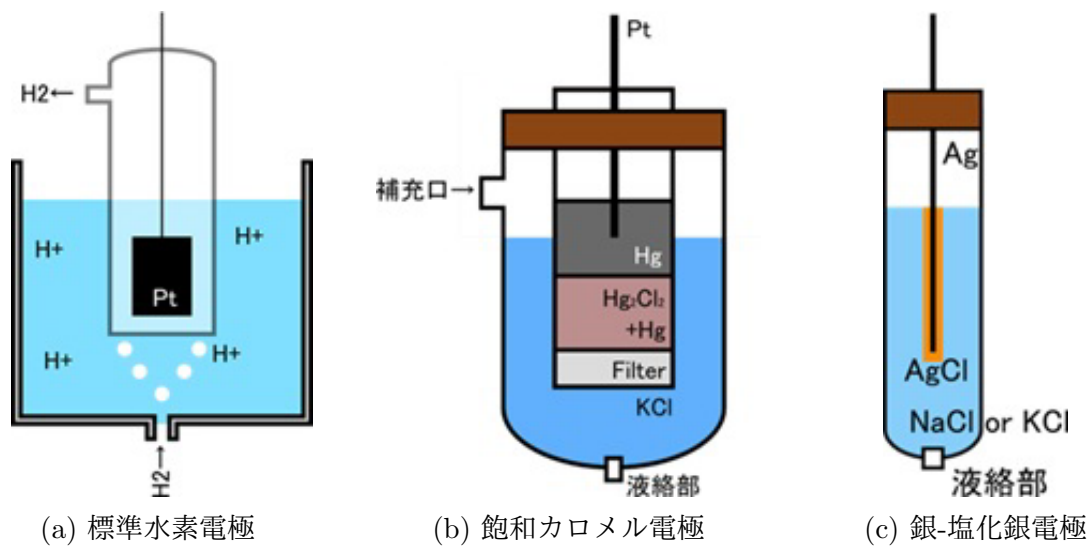


図 2.3: 参照電極の種類 [16]

表 2.2: Ag/AgCl 電極の内部溶液の違い [16]

参照電極の内部溶液	Potential (vs, SHE, 25 °C)
0. 1M KCl	0. 289V
1M KCl	0. 236V
Satu KCl	0. 197V
3M KCl	0. 209V

## 2.2.2 酸化還元センサの測定系

電気化学測定の測定系は2電極法と3電極法に大別される。2電極法について説明する。2電極法は図2.4に示すように、作用電極と参照電極を用いた測定系であり、作用電極と参照電極の電位差を測定し化学物質を検出する。この時の電位はネルンストの式に従うため次式のように表される。

$$E_{redox} = E_{redox}^0 + \frac{RT}{nF} \ln\left(\frac{a_{Ox}}{a_{Red}}\right) \quad (2.7)$$

$E_{redox}$  を酸化還元電位、 $E_{redox}^0$  は標準酸化還元電位（または平衡電極電位）、 $a_{Ox}$  および  $a_{Red}$  は酸化体および還元体の活量、 $R$  は気体定数 ( $8.31\text{J/mol}\cdot\text{K}$ )、 $T$  は温度、 $F$  はファラデー定数 ( $9.65 \times 10^4\text{C/mol}$ )、 $n$  は電子数である。標準酸化還元電位は物質が持つ分圧1気圧、濃度1molあたりの基準電極との電位差であり、使用する参照電極の平衡電極電位となる。式(2.7)の電極電位から、酸化種と還元種の濃度比を求めることや、測定溶液が還元性あるいは酸化性かを知ることができる。しかしながら、2電極法の測定系では参照電極に電流が流れてしまうため、参照電極の電位を決めている電極-電位界面において酸化還元種の濃度が変化し、標準酸化還元電位が変動してしまうという問題がある。そのため、正しい酸化還元電位を測定することが困難である。また、作用電極に印加される電位は溶液の抵抗により変化するため、印加した電圧の値より減少する。そのため、溶液抵抗が小さくかつ電流も小さい場合でしか適用できない問題がある。これに対し、3電極法（図2.5）は作用電極、参照電極の他に対向電極を用いる。3電極法の場合、参照電極に対し設定した電位が印加されるように作用電極と対向電極の間に電位が印加される。従って、電流が作用電極と対向電極間に流れるため参照電極への電位の影響は少ないことが知られている。これらの理由から、一般的に3電極法が電気化学測定法では用いられる。2.3.1節では3電極法を用いた電気化学測定法であるCV法について説明する。

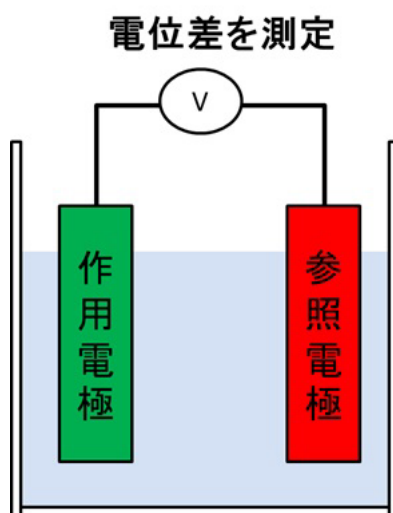


図 2.4: 2電極法

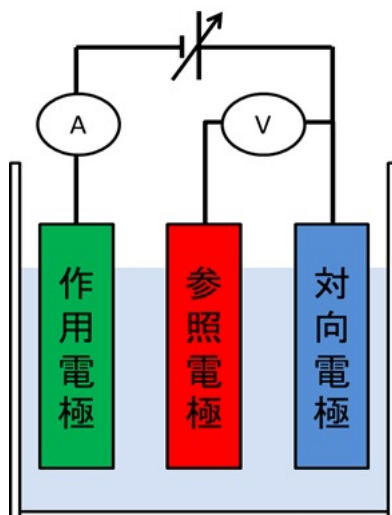


図 2.5: 3 電極法

## 2.3 電気化学測定法

電気化学測定法は溶液中の化学物質の定量・定性分析が簡便に行える手法として、幅広い用途で用いられている。電気化学測定法は、電位規制電解法と電流規制電解法に大別される [15]。電位規制電解法は、電極電位を時間の関数として外部より電極に印加し、電極に流れる電流を測定する測定法である。電位規制電解法を用いる電気化学測定法は、ポテンシャルステップ・クロノアンペロメトリー (PSCA) 法、ノーマルステップボルタンメトリー (NSV) 法、微分パルスボルタンメトリー (DPV) 法、サイクリックボルタンメトリー (CV) 法、ポーラグラフィ (PG) 法などが一般的に使用される。電流規制電解法は、電極に流れる電流を時間の関数として外部から規制し、電極電位の変化を測定する。電流規制電解法を用いる測定法はクロノポテンシオメトリーや電流規制ポーラログラフィーが一般的に使用される。電気化学測定法の電位規制電解法と電流規制電解法の一例を図 2.6 に示す。図 2.6 には、方法・印加信号・電極応答・表示グラフを示しており測定対象によって電気化学測定法には相性があり、アプリケーション応用の際は適した電気化学測定法を用いることが重要である。その中でも CV 法は、実験が比較的容易であり、物質を特定するために必要な酸化還元電位以外にも、平衡論的パラメータや拡散情報、電極反応、溶液内化学反応の速度論的パラメータなどの化学物質の情報を鋭敏に反映できる特徴を持っており、電極反応を直感的に把握しやすいという利点がある。本研究においても CV 法を用いて実験を行っている。CV 法の詳細については 2.3.1 節に述べる。CV 法は前述した利点はあるが測定時間を速くしようとするとき充電電流（非ファラデー電流）の寄与が大きいことが知られている。充電電流とは、溶液-電極界面の電気 2 重層が原因で発生する酸化還元センサにとってノイズのような存在である。そのため、本研究では充電電流の寄与が少ないことが知られている矩形波ボルタンメトリー (SWV) 法においても実験を行い検証を行った。矩形波ボルタンメトリーについての詳細は 2.3.2 節に述べる。また、クロノアンペロメトリー (CA) 法についても 2.3.3 節に述べる。



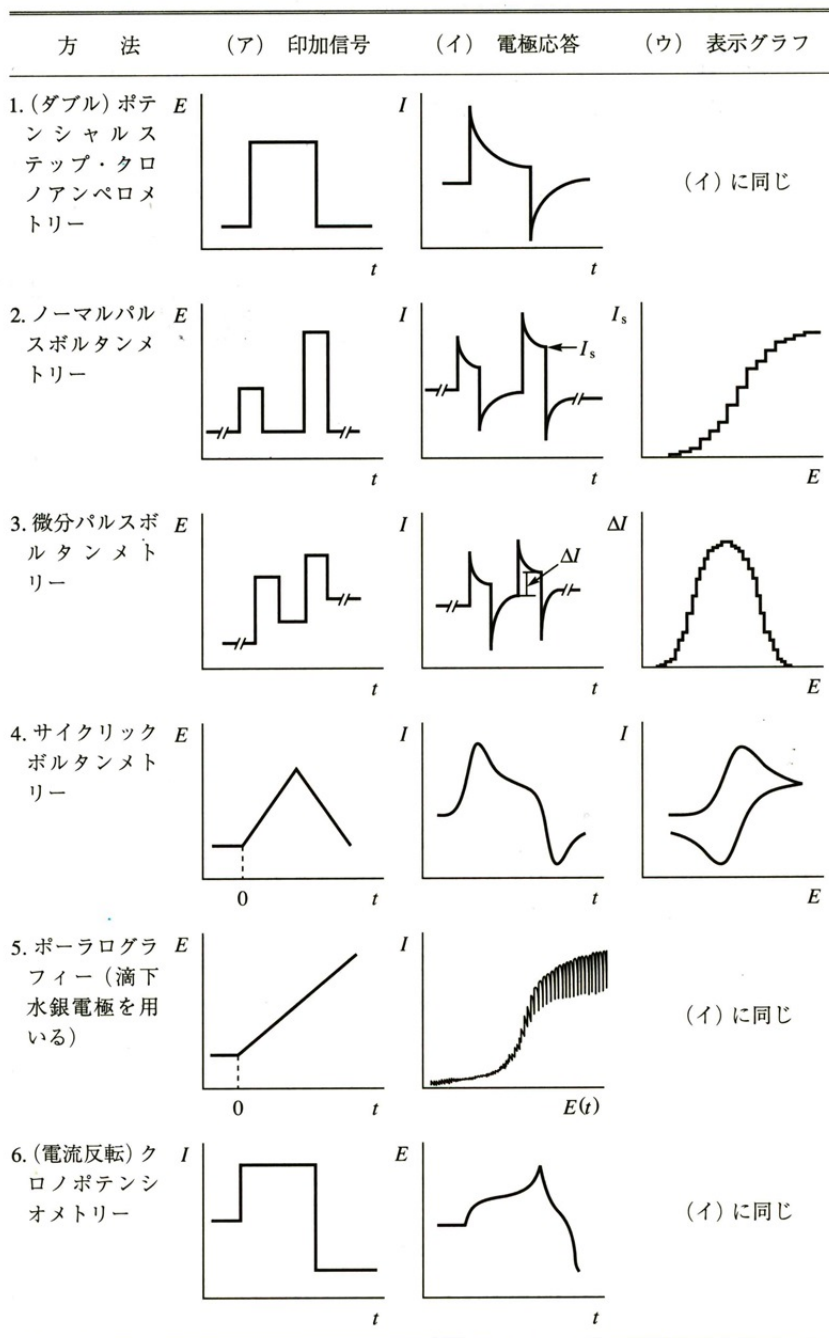


図 2.6: 電気化学測定法の一例 [15]

### 2.3.1 サイクリックボルタンメトリー (CV)

CV 法は、3 電極法を用いた電気化学測定法である。測定は図 2.5 に示した測定系である。CV 法では参照電極と作用電極の間に三角波形状の電位を掃引し、その時の作用電極と対向電極との間に流れる電流を測定する。CV 法において、作用電極は酸化還元反応が生じた際の酸化還元電流を測定する電極、対向電極は電流のソース/シンクの役割を持つ電極、そして参照電極は、作用電極に印加する電位の基準となる電極になる。このような測定系を実現するために必要な回路をポテンシオスタットといい、集積化された報告が多い回路である。ポテンシオスタットの回路例を図 2.7 に示す [15]。ポテンシオスタットの動作原理を説明する。はじめに、関数発生器 (G) から印加される電圧  $E_{\text{appl}}$  が電圧入力端子 (A) に印加される。その時、2 つのオペアンプ (OA1, OA2) により、参照電極の電位を制御し、参照電極に対して  $E_{\text{appl}}$  の電圧が印加されるようにする。この時、作用電極の電位は、オペアンプ (OA3) により、接地状態 (0 V) に保たれる。これにより相対的に参照電極と対向電極の電位差が制御される。作用電極上での酸化還元反応による電流は OA3 と  $R_c$  により、電流電圧変換され、電圧の値が  $iR_c$  として読み出される。対向電極は低インピーダンスであるオペアンプの出力部に接続され、電流のシンク-ソースとして働いている。PF (正帰還回路) 部分は、 $iR$  ドロップを補償するために入力されている。 $\alpha iR_c$  ( $0 < \alpha < 1$ ) を入力段に帰還させることにより、作用電極には、 $E_{\text{appl}} + \alpha iR_c$  が印加される。参照電極と作用電極間の溶液抵抗を  $R_{\text{sol}}$  とすると、作用電極にかかる電圧は、 $E_{\text{appl}} + i(\alpha R_c - R_{\text{sol}})$  となり、 $\alpha R_c = R_{\text{sol}}$  となるように  $\alpha$  を定めることで、 $iR$  ドロップを 100% 補償する回路構成となっている。図 2.8 に CV の波形図を示す。 $E_{\text{appl}}$  を図 2.8 (a) に示すように  $E_i$  から  $E_\lambda$  まで掃引し、その後再び  $E_i$  戻していく。測定溶液中に酸化還元種が入っていない場合には、電気化学反応に起因する酸化還元電流は流れない。よって、溶液との等価回路の簡単なモデルは溶液抵抗と電気 2 重層容量を直列につないだモデルで表される。次に、酸化還元種がある場合を考える。溶液の等価回路を図 2.9 に示す。 $R_{\text{ct}}$  は電荷移動抵抗であり、酸化還元反応に応じて変化する抵抗である。 $R_{\text{sol}}$  が溶液抵抗でありこれが  $iR$  ドロップに寄与する抵抗なため  $iR$  ドロップの寄与をなるべく小さくするために参照電極と作用電極の距離を近づけることや電解質濃度を高濃度にする対策がされる。溶液中に含まれる酸化還元種に応じて、図 2.8(b) のような波形が示される。I-V プロットに置き換えると図 2.8(c) のようになる。この図をサイクリックボルタモグラムと呼ぶ。

図 2.10 に、サイクリックボルタモグラムの詳細図を示す。サイクリックボルタンメトリーの形状は次のように説明される。電子移動が十分速いとなると酸化還元電流  $I_{\text{Redox}}$  は、拡散によって定まり、次の式のように電極表面での濃度勾配に比例する。

$$I_{\text{Redox}} = nFAD_P \left| \frac{dC_P}{dx} \right|_{x=0} (P = \text{ox or red}) \quad (2.8)$$

ここで、 $n$  は反応電子数、 $F$  はファラデー定数、 $A$  は電極面積、 $D_P$  は拡散係数、 $C_P$  は対象となる酸化還元種の濃度、 $x$  は電極からの距離である。CV 波形の詳細について述べる。

1. 掃引開始 (a) からピーク頂点 (c) まで電圧が徐々に減少するにつれ、ネルンストの式に従い、電極表面の酸化種/還元種の割合が変化する。拡散層の長さも時間の経過に伴い変化するが、濃度変化の方が支配的であり、指数関数的に還元電流  $I_{\text{Redox}}$  が増大する。
2. 頂点 (c) から設計した電位範囲 (走査終了 (d)) まで徐々に拡散層が広がり、濃度勾配が緩くなり電流が減少する。そして電位が酸化還元電位よりも十分 (0.1 V 以上) 小さくなると、電極表面の酸化体が少なくなり、拡散層の広がりによる効果が支配的となる。電流値は時間の平方根に比例して減ずるコットレル (Cottrell) の式に従う。

$$I = -nFADC(\pi Dt)^{-1/2} \quad (2.9)$$

3. 折り返し点 (d) から下向きピーク頂点 (f) まで，拡散層が徐々に広がり，電流は減少する．酸化還元電位に近づいてくると，再び系はネルンストの式に従い，電極表面の還元体が酸化体に戻り，酸化電流が流れる．(f) では酸化反応が支配的となり，電流値は，電位  $E$  の寄与が支配的となる．
4. 下向きピーク頂点 (f) から，初期電位点 (g) まで拡散層の伸びによる濃度勾配の低下が支配的となる．電流値は，時間の関数となり，時間の経過に伴って拡散層が伸び，電流値は減少する．上記の説明より，ピークの位置を境にして，ネルンストの式が支配的な部分と，拡散層の広がりが支配的な部分に分けられる．

サイクリックボルタモグラムから得られる情報は，酸化ピーク電位  $E_{pa}$  ，酸化ピーク電流  $I_{pa}$  ，半端電位  $E_{1/2}$  ，還元ピーク電位  $E_{pc}$  ，還元ピーク電流  $I_{pc}$  があげられる．これらの関係は，次の式であらわされる．

$$I_{Pa} = 2.69 \times 10^5 n^{3/2} A c v^{1/2} D^{1/2} (25^\circ\text{C}) \quad (2.10)$$

$$E_{Pa} = E_{1/2} + \frac{28.5}{n} (mV) \quad (2.11)$$

$$E_{Pc} = E_{1/2} - \frac{28.5}{n} (mV) \quad (2.12)$$

CV 法は，簡単な操作で化学物質の酸化還元電位，拡散の情報，可逆性など多くの情報が得られるため，化学物質の検出として有効な方法である． $E_{Pa}$  と  $E_{Pc}$  の中間電位である酸化還元電位  $E^0$  は物質固有の値であるため，サイクリックボルタメトリーにより対象物質の検出ができる．他にも，対象とする系の可逆性や電極表面の様子を観察することもできる．我々のグループにおいて，この CV 法を半導体技術により集積した電気化学センサを報告している [23,24]．ピーク高さは濃度に比例するため，対象物質の濃度を計測することもできる．注意点として，ピーク電流値を求める場合は電流値が 0 の地点から読み取ることはできない．これはピーク電流値の絶対値には電極-溶液間の電気 2 重層からの充電電流が含まれているためである．そのため，非ファラデー電流を差し引いてからピーク電流値を算出する必要がある．

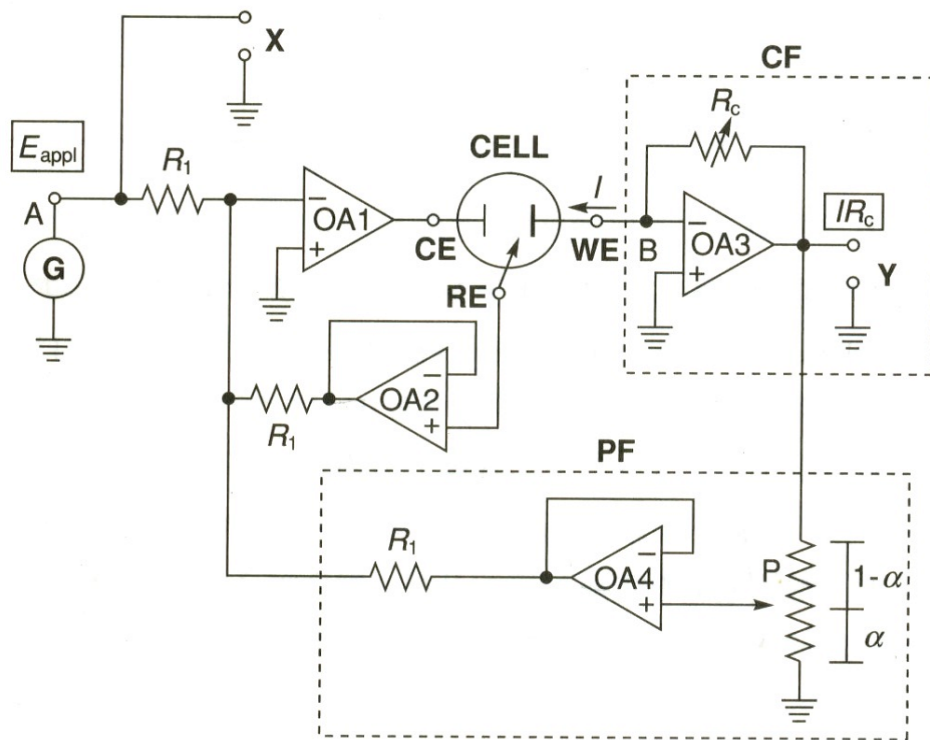


図 2.7: ポテンシオスタットの基本回路 [15]

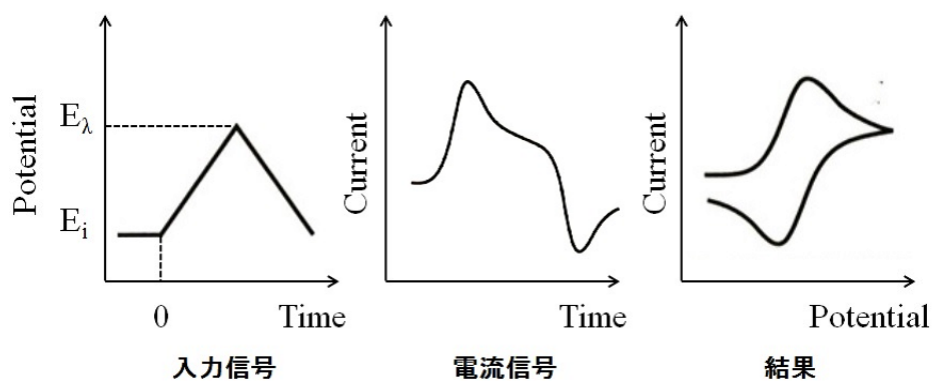


図 2.8: サイクリックボルタンメトリーの波形図

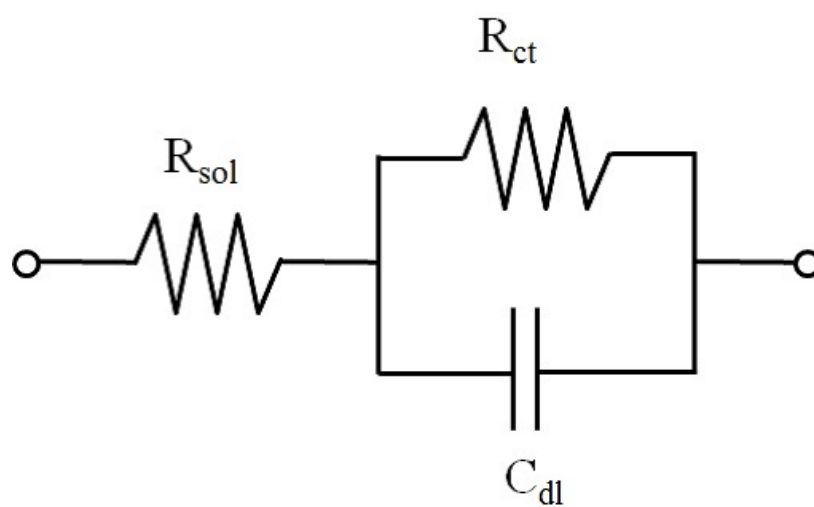


図 2.9: 溶液の等価回路

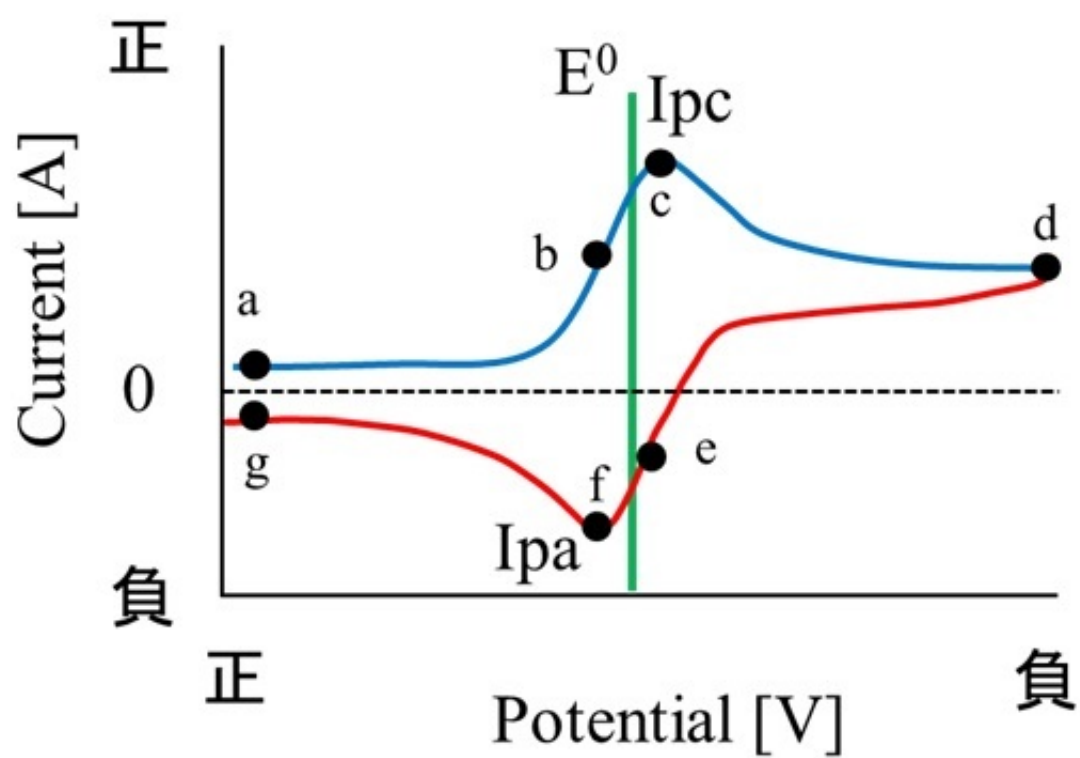


図 2.10: サイクリックボルタモグラム (cathodic positive)

これまで、CV法の理想形について述べたが、CV法のピーク電流値やピーク電位は様々な影響により異なる値を示す。CV法において重要な影響をまとめると以下のようになる。

- 掃引速度
- 測定時の温度
- 作用電極のサイズ

図 2.11 に、掃引速度の変化によるサイクリックボルタモグラムの示す。式 (2.10) で示したように掃引速度を速くすることにより電流値が大きくなる。この現象は、酸化体または還元体がピーク電位に到達するまで、酸化還元反応による反応種の消費量によりピーク電流が決定されているためである。ピーク電位に到達するまで酸化体または還元体は酸化還元反応に応じた電流が流れる。そのため、酸化体や還元体などの反応種はピーク電位に到達するまでに消費される。掃引速度を速くするとピーク電位に到達するまでの反応種の消費量を抑えることができる。その結果、反応律速であるピーク電位地点の電流値が大きくなる。しかしながら、掃引速度を速くすることによって電流値が平方根で増加するが、電気化学測定においてノイズである充電電流は掃引速度と比例関係がある。そのため、微小電流測定において掃引速度を上げる手法をとった場合、充電電流にピークが埋もれてしまう可能性がある。これらのことから、充電電流にピーク電流が埋まらない掃引速度に設定する必要がある。

測定時の温度もピーク電流値を変化させる原因の一つである。この原因は温度変化により物質の拡散係数が変化するためである。測定の際の温度を考慮することで、正確な電流値を測定することができる。図 2.12 に微小作用電極のサイクリックボルタモグラムの示す。高速応答性や感度の向上などこれまでの測定限界を超える測定が行えることから微小電極を用いる電気化学測定が注目されている [17]。特に、半導体の微細加工技術を用いると、円盤や線状の電極ばかりでなく、複雑な形状の電極を正確かつ効率的に作製することが可能である。一般に、微小電極とは直径 10  $\mu\text{m}$  以下である [18]。電極表面における反応物質のプロファイルを考えてみると、表面では反応物が減少し、生成物が増加する。そして、それぞれに溶液バルク濃度と濃度差が生じるため、減少した反応物はバルクから供給され、増加した生成物は電極表面から散逸する。この濃度勾配の生じ方を線形近似できるか否かで、電極の挙動が変わる。線形近似ができるか否かは、電極サイズと拡散層の厚さによる。電極サイズが大きく、物質輸送を半無限一次元拡散(面拡散)とみなせる場合(図 2.13)、拡散層は電解時間とともに溶液内部へと際限なく伸びていく(対流がない場合に限る)。そのため、時間に対して電位を正/負に掃引する CV 法では走査スピードが遅いほど拡散層が伸び、電極表面での濃度勾配が小さくなるため、電流値が減少する。時間とともに拡散層が成長するため、応答は定常状態とならない。一方、電極サイズが小さくなると、電極表面の拡散プロファイルは半円柱状・半球状となり(図 2.14)、単位面積当たりに拡散してくる酸化還元種(反応物質)量が増加する。従って、電極上での反応物質の消費量に比べ拡散による供給量が大きくなる。そして、両者の供給/消費スピードが釣り合った時点で拡散層は成長しなくなるため、走査スピードに関係なく、定常な応答を示すサイクリックボルタモグラムが得られるようになる。この時、酸化電位以上で流れる電流は一定となり、限界電流と呼ばれる。この電流の大きさは、掃引速度を多少変えても変化しない。限界電流  $i_L$  は次式で表わされる。

$$i_L = 4nFCDA \quad (2.13)$$

限界電流は濃度に比例するため、反応物質を定量することができる。

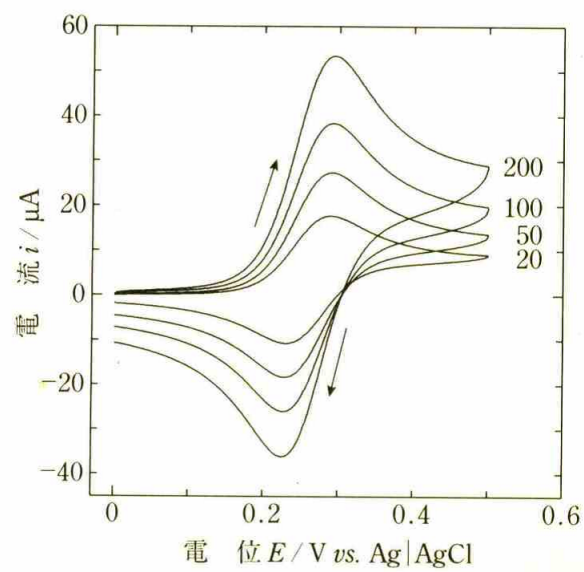


図 2.11: 掃引速度によるサイクリックボルタモグラム [16]

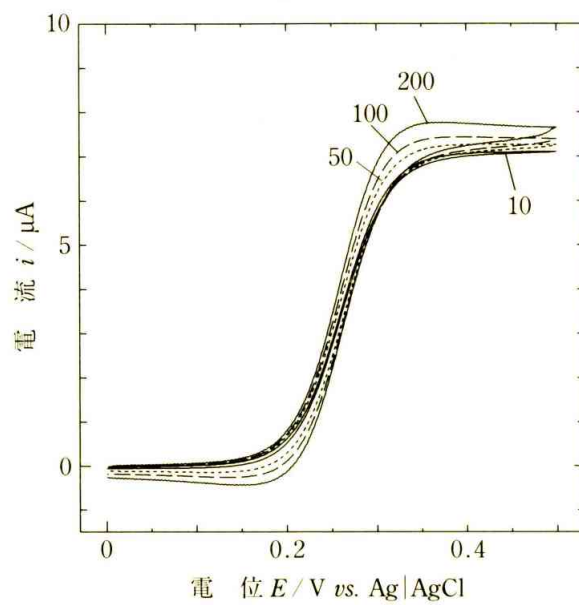


図 2.12: 微小電極によるサイクリックボルタモグラム [16]



図 2.13: 拡散プロファイル (通常の電極サイズ)

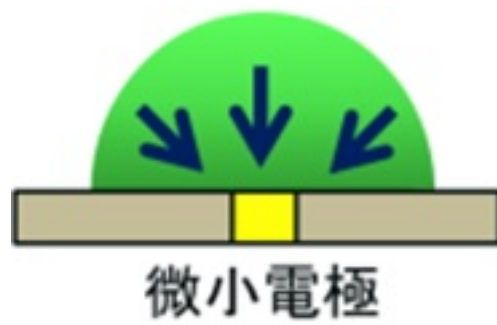


図 2.14: 拡散プロファイル (微小電極)



### 2.3.2 矩形波ボルタンメトリー (SWV)

矩形波ボルタンメトリー法は、CV法と同様に3電極法を用いて電気化学測定を行う方法である。CV法と異なる点は、CV法は作用電極と参照電極との間の電位を三角波形状に掃引するが、SWV法は作用電極と参照電極との間に階段状に変化する基底電位に、矩形波を重畳した電位を掃引し、作用電極の電位と参照電極の電位に対する電流の差分値が検出される。図2.15に、SWV法の印加電圧及びその時の電流応答、電流-電圧の結果を示す。SWV法の電流応答は矩形波の立ち上がり・立ち下りが印加された時に電流ピークが現れ、その後徐々に減少し一定になる。この電流のピークと減衰は、溶液-作用電極間に形成される電気2重層の充放電を表している。CV法では、電極と溶液との間のキャパシタ成分により電気2重層が形成されるので、測定的高速化には限界が生じる。その結果、CV法では高速化しても測定信号よりノイズが大きくなり、計測ができなくなるという問題がある。一方、SWV法では、パルス電圧を印加することにより電極と溶液との間のキャパシタ成分を高速に充放電することが可能ため、CV法と比較して測定を高速化することができる利点がある。SWV法では参照電極の電位と作用電極の電位に対する電流の差分値を結果と表示し、電流の差分値のピーク値から溶液中の化学物質の濃度を求めることができる。SWV法の場合、電流値には理想的には充電電流成分がないため電流値が0からピークまでの電流値を酸化還元ピーク電流と読み取ることができる。しかしながら、電流値が小さい場合や、掃引速度が速すぎた場合など、十分に充電電流成分を下げることはできない場合、電流値が0の地点から読み取することは困難である。SWV法のピーク電流値の定量評価法として、ガウスピークによるベースラインの算出、シグモイド波形によるベースラインの算出が行われる。ガウスピークからの算出は、ピークの両サイドの谷の部分でベースラインとしてピーク電流値を算出する。ガウスピークからの算出は一般的に用いられる。ピークの片サイドにしか谷がない場合、シグモイド波形によるピークのベースラインの算出を行う。この方法は谷の部分とピークの位置をベースラインとしてピーク電流の定量化を行う。我々のグループにおいて、SWV法を半導体技術により集積した報告もある[25,26]。しかしながら、電流の測定ポイントが離散量であるため正確なピーク電位を計測することはできない問題がある。また、構成する回路はCV法に比べて複雑となる。

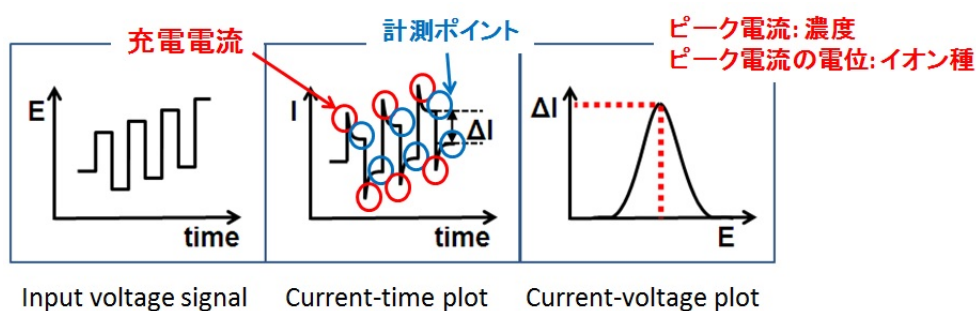


図 2.15: SWV 波形

### 2.3.3 クロノアンペロメトリー (CA)

クロノアンペロメトリー法は、最も基礎的な電気化学測定法の1つである。CA法では作用電極と参照電極の間にステップ波形を掃引し、化学物質を検出する。図2.16に、CA法の印加電圧及びその時の電流応答、電流-電圧の結果を示す。電位を初期電位  $E_i$  から測定対象の酸化還元電位  $E_\lambda$  に変化させ、その時の電流応答を時間の関数として測定を行う。 $E_i$  から  $E_\lambda$  に変化させた場合の電流応答は、SWV法で説明したような充電電流の充放電がまず現れ、そのあと電流は一定値をとる。そのときの電流から化学物質の濃度を知ることができる。CV法やSWV法と比較して測定が簡便であるが、測定対象の酸化還元電位に固定されるため測定対象外の化学物質が混入している測定では用いることが困難である。そのためCA法は、複数物質の濃度の定量測定には不向きではあるが、ターゲットとしている化学物質をリアルタイムに測定できる特徴から、化学物質の経時変化をとるような場合によく用いられる。また、CA法は電気化学系における拡散係数の推定にも有効である。

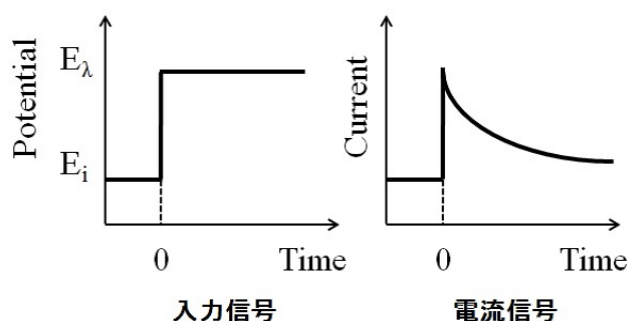


図 2.16: CA 波形

## 2.4 酸化還元センサの現場応用への課題

酸化還元センサの現場応用に関する課題について述べる。酸化還元センサは3電極を用い様々な用途に合わせた電気化学測定法を用いることで、様々な物質の特定が可能となる。現場計測の実現に際し、小型で低濃度の化学物質が検出可能および簡易にリアルタイム測定できることが要求される。酸化還元センサは、クロマトグラフィーのような前処理や分光計測のような光学系の装置が必要ないため小型で化学物質の検出が行えることから現場計測の実現が期待されている。しかしながら、酸化還元センサは濃度と測定電流（酸化還元電流）の間に比例関係があることが知られており、低濃度の計測をする場合、非常に小さな電流を測定しなければならない。また、現場計測において実環境におけるセンサと計測器間の外乱ノイズの影響を考慮する必要がある。従って、低ノイズで高感度な電流計測器が求められるが計測器は低ノイズ・高感度になるほど装置の規模が大きくなってしまいうため、現場計測を実現する上で課題になる。そのため、半導体技術を利用し電気化学センサに増幅機能を付与することを提案した。増幅機能を付与することによって、実環境におけるセンサと計測器間の外乱ノイズの影響を気にすることがなくなり、小型な計測器による測定が達成できるようになる。また、電気化学測定では低周波領域で行う測定が主であり低周波ノイズ（フリッカーノイズ）を少なく増幅することが求められている。そこで、本研究では、

それらの問題に対しフリッカーノイズが小さく単素子において高い増幅が可能であるバイポーラトランジスタと作用電極を一体化した増幅型酸化還元センサのを提案した．第3章においてバイポーラトランジスタを一体化した増幅型酸化還元センサの詳細を述べる．

## 2.5 まとめ

この章では，本研究の酸化還元センサの原理，電気化学測定法，酸化還元センサの現場応用への課題について述べた．特に，本研究で用いる電気化学測定法のCV法とSWV法，CA法に関して詳しく述べた．集積化した場合の酸化還元センサの効果と課題に関しても酸化還元センサは濃度と測定電流（酸化還元電流）の間に比例関係がある．従って，低濃度の化学物質を測定する場合，非常に小さな電流を測定する必要がある．また，実環境におけるセンサと計測器間の外乱ノイズの影響，電気化学測定における低周波ノイズの問題がある．これに対し，増幅素子であるバイポーラトランジスタと作用電極を一体化した増幅型酸化還元センサを提案した．第3章において，バイポーラトランジスタと作用電極とを一体化した増幅型酸化還元センサの詳細について述べる．

## 参考文献

- [1] F. Lagarde and N. Jaffrezic-Renault, "Cell-based electrochemical biosensors for water quality assessment," *Anal. Bioanal. Chem.*, vol. 400, no. 4, pp. 947-964, 2011.
- [2] F. Winquist, J. Olsson, and M. Eriksson, "Multicomponent analysis of drinking water by a voltammetric electronic tongue," *Anal. Chim. Acta*, vol. 683, no. 2, pp. 192-197, 2011.
- [3] R. Gunigollahalli Kempegowda and P. Malingappa, "A binderless, covalently bulk modified electrochemical sensor: Application to simultaneous determination of lead and cadmium at trace level," *Anal. Chim. Acta*, vol. 728, pp. 9-17, 2012.
- [4] A. Afkhami, T. Madrakian, S. J. Sabounchei, M. Rezaei, S. Samiee, and M. Pourshahbaz, "Construction of a modified carbon paste electrode for the highly selective simultaneous electrochemical determination of trace amounts of mercury(II) and cadmium(II)," *Sensors Actuators, B Chem.*, vol. 161, no. 1, pp. 542-548, 2012.
- [5] M. Noh and I. Tothill, "Determination of Lead (II), Cadmium (II) and Copper (II) in Waste-Water and Soil Extracts on Mercury Film Screen-Printed Carbon Electrodes Sensor," *Sains Malaysiana*, vol. 40, no. 10, pp. 1153-1163, 2011.
- [6] O. Krystofova, L. Trnkova, V. Adam, J. Zehnalek, J. Hubalek, P. Babula, and R. Kizek, "Electrochemical microsensors for the detection of cadmium(II) and lead(II) ions in plants.," *Sensors (Basel)*, vol. 10, no. 6, pp. 5308-28, 2010.
- [7] H. Xu, L. Zeng, S. Xing, Y. Xian, G. Shi, and L. Jin, "Ultrasensitive voltammetric detection of trace lead(II) and cadmium(II) using MWCNTs-nafion/bismuth composite electrodes," *Electroanalysis*, vol. 20, no. 24, pp. 2655-2662, 2008.
- [8] M. Essi and A. Pradel, "Micro-Electrode for Copper Ion Detection in Solution," *Chalcogenide Lett.*, vol. 8, no. 1, pp. 15-23, 2011.
- [9] H. S. Yoon, X. Xuan, J. W. Lee, and J. Y. Park, "IMPLANTABLE ENZYME FREE GLUCOSE SENSOR BASED ON FLEXIBLE STAINLESS STEEL FOR CONTINUOUS MONITORING AND MASS PRODUCTION Reagents and Apparatus," *Solid-State Sensors, Actuators and Microsystems (TRANSDUCERS), Transducers-2015 18th International Conference on. IEEE.*, pp. 1770-1773, 2015.
- [10] G. Wang, X. He, L. Wang, A. Gu, Y. Huang, B. Fang, B. Geng, and X. Zhang, "Non-enzymatic electrochemical sensing of glucose," *Microchim. Acta*, vol. 180, no. 3-4, pp. 161-186, 2013.

- [11] S. Vashist, "Continuous Glucose Monitoring Systems: A Review," *Diagnostics*, vol. 3, no. 4, pp. 385-412, 2013.
- [12] A. J. Bandodkar, W. Jia, C. Yardimci, X. Wang, J. Ramirez, and J. Wang, "Tattoo-based noninvasive glucose monitoring: a proof-of-concept study," *Anal. Chem.*, vol. 87, no. 1, pp. 394-398, 2015.
- [13] B. Yu, N. Long, Y. Moussy, and F. Moussy, "A long-term flexible minimally-invasive implantable glucose biosensor based on an epoxy-enhanced polyurethane membrane," *Biosens. Bioelectron.*, vol. 21, no.12, pp. 2275-2282, 2006.
- [14] Y. J. Lee, D. J. Park, J. Y. Park, and Y. Kim, "Fabrication and optimization of a nanoporous platinum electrode and a non-enzymatic glucose micro-sensor on silicon," *Sensors*, vol. 8, no. 10, pp. 6154-6164, 2008.
- [15] 大堺利行, 加納健司, 桑畑進, ベーシック電気化学, 化学同人, 2000.
- [16] 電気化学会編, 電気化学測定マニュアル基礎編, 丸善株式会社, 2002.
- [17] 青木幸一, 森田雅夫, 堀内勉, 丹羽修, 微小電極を用いる電気化学測定法, 電子情報通信学会, 1998.
- [18] K. Stulik, C. Amatore, K. Holub, V. Marecek, and W. Kutner, "Microelectrodes. Definitions, characterization, and applications," *Pure Appl. Chem.*, vol.72, no.8, pp. 1483-1492, 2000
- [19] H. Suzuki and T. Taura, "Thin-Film Ag/AgCl Structure and Operational Modes to Realize Long-Term Storage," *J. Electrochem. Soc.* vol.148, no.12, pp. E468-474, 2001.
- [20] I. Y. Huang, R. S. Huang, and L. H. Lo, "Improvement of integrated Ag/AgCl thin-film electrodes by KCl-gel coating for ISFET applications," *Sensors Actuators, B Chem.*, vol. 94, no. 1, pp. 53-64, 2003.
- [21] S. Ayers, K. Berberian, K.D. Gillis, M. Lindau, B. A. Minch, "Post-CMOS fabrication of Working Electrodes for On-Chip Recordings of Transmitter Release," vol. 18, no. 9, pp. 1199-1216, 2013.
- [22] 藤嶋昭, 相澤益男, 井上徹, 電気化学測定法, 技報堂出版, 1984.
- [23] T. Yamazaki, T. Ikeda, M. Ishida, and K. Sawada, "Compact Electrochemical System Using On-Chip Sensor Electrodes and Integrated Devices," *Jpn. J. Appl. Phys.*, vol. 50, no. 4, pp. 04DL02-1 - 04DL02-4, 2011.
- [24] T. Yamazaki, T. Ikeda, B. Lim, K. Okumura, M. Ishida, and K. Sawada, "Smart integrated sensor for multiple detections of glucose and L-lactate using on-chip electrochemical system," *J. Sensors.*, 2011.
- [25] B. Lim, M. Futagawa, S. Takahashi, F. Dasai, M. Ishida, and K. Sawada, "Integrated 8 × 8 array redox sensor system employing on-chip square wave voltammetric circuit for multi

point and high-speed detection Integrated  $8 \times 8$  array redox sensor system employing on-chip square wave voltammetric circuit for multi point and high-s, ” Jpn. J. Appl. Phys., vol. 53, no. 4, p. 046502-1 - 046502-5, 2014.

- [26] B. Lim, M. Futagawa, S. Takahashi, F. Dasai, M. Ishida, and K. Sawada, “On-chip square wave voltammetric pulse generator for redox measurement employing array structure, ” Biomedical Circuits and Systems Conference (BioCAS), IEEE., pp.113 - 116, 2014.

## 第3章 増幅型酸化還元センサ

### 3.1 はじめに

2.4節で述べたように現場計測の実現に際し、小型で低濃度の化学物質がリアルタイムに検出できるデバイスが必要である。本研究では、酸化還元センサの使用を提案しているが、測定原理上、微小電流の測定は不利である。さらに現場計測の際、実環境におけるセンサと計測器間の外乱ノイズの影響を考慮する必要がある。これらを考慮した電流計は装置規模が大きく、現場計測を実現する上で課題となる。このような現状を鑑み、本研究では半導体技術を利用し電気化学センサに増幅機能を付与することを提案した。増幅機能を付与することで、小型かつ低感度な計測器による電流測定が達成できるようになるため、現場測定に適したセンサが実現可能になると考える。

そこで本研究では、バイポーラトランジスタと酸化還元センサを融合した増幅型酸化還元センサを提案した。増幅型酸化還元センサは電流増幅素子であるバイポーラトランジスタとセンシングエリアである作用電極とを一体化した構造をしており、作用電極からの酸化還元電流を単素子で直接増幅できる特徴を有している。また、バイポーラトランジスタはMOSFETに比べ、フリッカーノイズの影響が少ないことが知られており、低周波領域の測定が主である電気化学測定において検出限界の向上を期待できると考えた。

本章では、増幅型酸化還元センサの特徴、動作原理、設計、作製プロセス、そして評価と課題について述べる。

### 3.2 バイポーラトランジスタを基にした増幅型酸化還元センサの特徴

現場計測のための増幅器への要求として、小型で高増幅が可能、低周波ノイズが小さい増幅器が求められる。一般的な増幅素子としてMOSFETを使用した増幅器とバイポーラトランジスタを用いた増幅器がある。従来、電気化学測定における増幅器としてはMOSFETを使用したI-V変換回路の集積化が行われてきた[1-3]。一般に電流増幅回路としては、オペアンプを用いたI-V変換回路が用いられる。オペアンプを用いたI-V変換回路はMOSFETを複数使用し構成されていることや、キャパシタンスや抵抗が必要なため、回路規模が大きくなる。また、MOSFETはフリッカーノイズが大きいことが知られており、酸化還元センサの電流の増幅には不向きであると考えられる。CMOSによる低周波ノイズを低減する試みはいくつか報告されているが[5]回路規模が大きくなり1チップのサイズが大きくなることが推測される。そこで、本研究ではバイポーラトランジスタを基に増幅型酸化還元センサを提案した。今回提案する構造の断面図と回路図を図3.1、図3.2に示す。提案したセンサはバイポーラトランジスタと作用電極を一体化した構造となっている。バイポーラトランジスタを基にした増幅型酸化還元センサは次のような特徴を有している。

- 配線を介さず直接増幅が可能のため、配線に混入する外来ノイズが無い
- MOSFETに比べ、バイポーラトランジスタは低周波ノイズが小さいことから低周波数の電流を測定する電気化学測定と相性が良い

- オペアンプを使った電流増幅回路は MOSFET が複数素子必要であるのに対し、本研究で提案するセンサは単素子で形成でき、微細化が容易
- 単素子において 2 桁以上の電流増幅が可能であり、容易に微弱信号の増幅が可能

提案した増幅型酸化還元センサの構造は、作用電極とバイポーラトランジスタのベース端子が接続しているため、配線を介することなく電流を直接増幅することが可能である。そのため、配線に混入する外来ノイズの影響が無いという特徴を有している。また、欠陥の多い酸化膜界面に電流が流れる MOSFET と比較し、Si 基板内部に電流経路を持つバイポーラトランジスタは低周波ノイズ(フリッカーノイズ)が小さい。そのため、低周波数の電流を測定する電気化学測定において、S/N 比が良好な測定が可能である。バイポーラトランジスタを基にした増幅型酸化還元センサでは、バイポーラトランジスタ単素子で電流増幅が可能であり、チップサイズを増大させることなく電流増幅が可能である。また、バイポーラトランジスタは単素子で高増幅率を達成できる特徴を有している。これらの特徴からバイポーラトランジスタを基にした増幅型酸化還元センサは現場計測を実現できると考えられる。

バイポーラトランジスタの電流増幅式は以下のようになる [9]。

$$H_{fe} = \frac{\partial I_C}{\partial I_B} \quad (3.1)$$

$H_{fe}$  はバイポーラトランジスタの電流増幅率、 $I_C$  はコレクタ電流、 $I_B$  はベース電流である。また、ベース電流は次の式で表される。

$$I_B = I_E - I_C \quad (3.2)$$

そして、式 (3.1)、式 (3.2)、式 (2.8) から提案したセンサによる電流の増幅は以下の式になる。

$$\begin{aligned} I_{out} &= nFAD_P \left| \frac{dC_p}{dx} \right|_{x=0} (H_{fe} + 1) \\ I_{out} &= I_{Redox} (H_{fe} + 1) \\ I_{out} &= I_{Redox} H_{fe} \quad H_{fe} \gg 1 \end{aligned} \quad (3.3)$$

となる。式 (3.3) から酸化還元電流  $I_{out}$  は、バイポーラトランジスタによって  $H_{fe}$  倍される。

本研究では、バイポーラトランジスタを用いる試みは過去に例がないため、バイポーラトランジスタを用いた動作の検証を行なった。



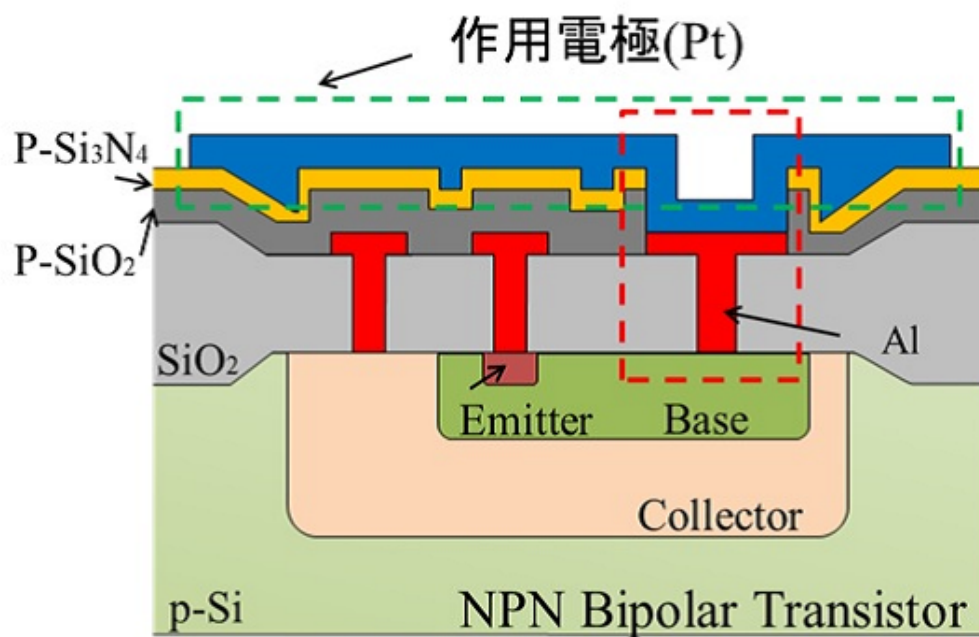


図 3.1: 提案したセンサの断面図

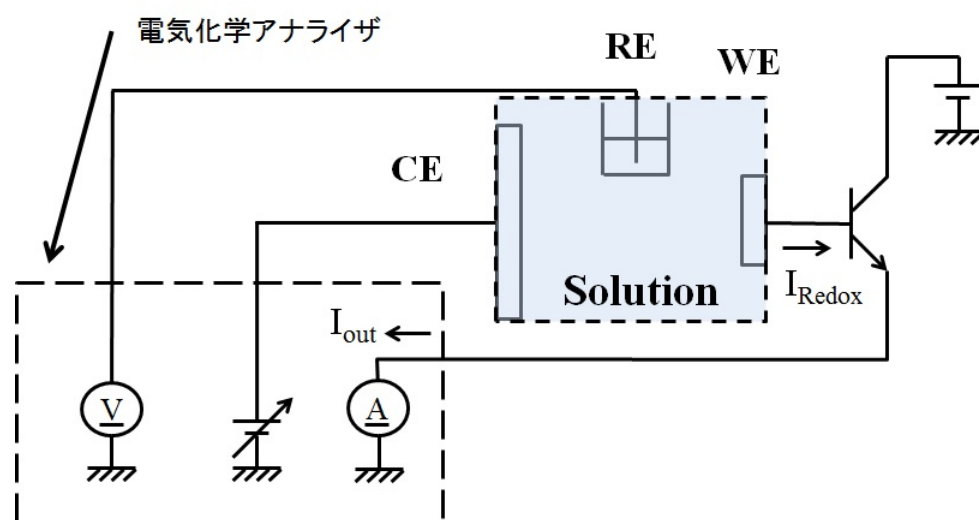


図 3.2: 提案したセンサの回路図

### 3.3 原理の検証

#### 3.3.1 バイポーラトランジスタを用いた原理検証

バイポーラトランジスタを基にした増幅型酸化還元センサは世界で初めてである。原理検証では、提案した増幅型酸化還元センサによる酸化還元電流の増幅と溶液電位への影響について確認を行った。表 3.1 に原理検証のための実験条件を示す。

表 3.1: 原理検証のための実験条件

バイポーラトランジスタ	2SC2238(市販品) [10]
電気化学測定法	CV 法
測定物質	フェリシアン化カリウム (2 mM)
電極系	WE:Pt( $\Phi 1.6mm$ ), CE:Pt(WE $\ll$ CE), RE:Ag/AgCl
電気化学アナライザ	電気化学アナライザ (CV-50W,BAS)

原理検証の方法として、市販の n-p-n バイポーラトランジスタ (2SC2238) [10] を使用し原理の検証を行った。電気化学測定法は 2.3.1 節で述べた電気化学特性が把握しやすい CV 法を用いた。測定物質は電気化学測定において電気化学特性が既に知られている 2 mM のフェリシアン化カリウムの  $K_3[Fe(CN)_6]$  を用い、電気化学セル (図 3.3) と電気化学アナライザ (CV-50W, BAS, 図 3.4) を使用し原理検証した。3 電極法に用いた。電極は作用電極と対向電極は貴金属電極である Pt 電極、参照電極は市販の Ag/AgCl 電極を使用した。図 3.5 に測定システムの全体図を示す。測定対象から電気化学アナライザ間の配線が市販のバイポーラトランジスタに結線され、図 3.2 の回路図のように配線される。図 3.6 に電極のみを用いた場合のサイクリックボルタモグラムを示す。図 3.6 の結果から、正電流のピークが還元電流ピーク、負電流のピークが酸化電流ピークであり、各々の絶対値からは対象物質の濃度  $[mol/cm^3]$  を求めることができる。また、各々のピーク電位の中間地点の電位が酸化還元電位であり、この電位から化学物質の同定が可能となる。フェリシアン化カリウムの酸化還元電位は 250 mV(vs.Ag/AgCl) 付近であるため、この結果からフェリシアン化カリウムが測定できていることが分かる。図 3.7 に市販のバイポーラトランジスタを配線した時のサイクリックボルタモグラムを示す。この結果から、酸化還元電流の還元ピーク電流が約 57 倍増幅できていることが確認された。これは、今回使用したバイポーラトランジスタは n-p-n 型のためバイポーラトランジスタの整流特性より正電流しか電流を流すことができないためであると推測される。また、電位がシフトしていることが確認された。これは、バイポーラトランジスタの動作電圧が溶液電位に影響を与え測定結果が見かけ上、電位のシフトが起きていることが推測される。電位のシフトについての詳細は 3.3 節に述べる。また、図 3.7 は 3 回連続測定した結果であるが、測定回数を重ねるごとに還元ピーク電流が減少していることを確認した。これはバイポーラトランジスタが酸化電流を流すことができないため、物質を酸化することができない。その結果、2.3 節で説明した CV の減少から還元した物質のみが増加し、酸化した物質が少なくなり還元できなくなるため、還元電流が減少したと考えられる。そこで、酸化電流と還元電流、両方の電流を流す提案としてバイポーラトランジスタのベース-エミッタ間にダイオードを付加した酸化還元センサを提案した。



図 3.3: 電気化学セル (WE: Pt 電極 1.6mm  $\phi$ , CE: Pt 電極, RE:Ag/AgCl 電極)



図 3.4: 電気化学アナライザ (CV-50W,BAS)

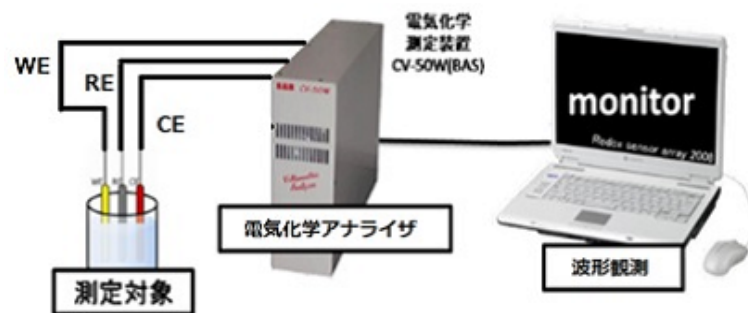


図 3.5: 測定システムの構成図

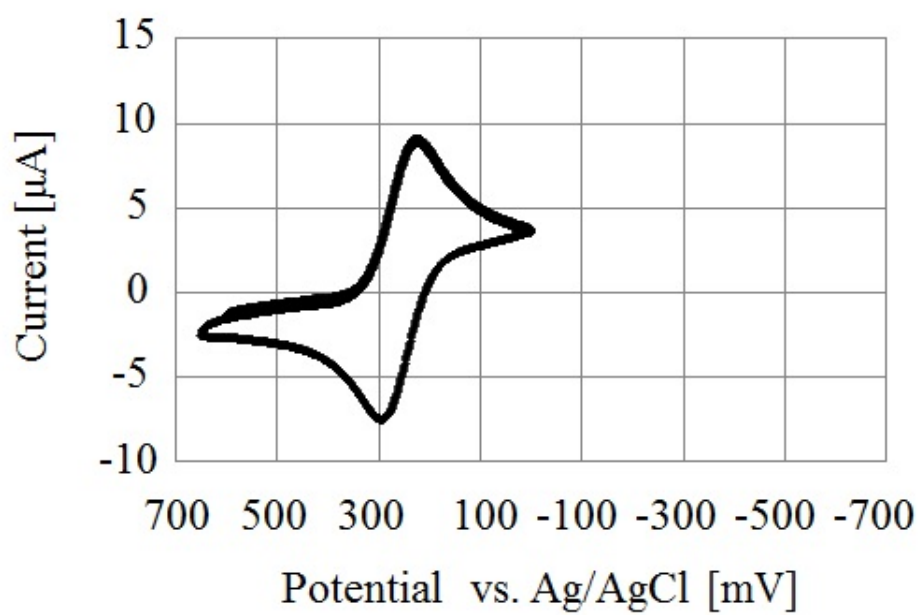


図 3.6: 電極のみのサイクリックボルタモグラム

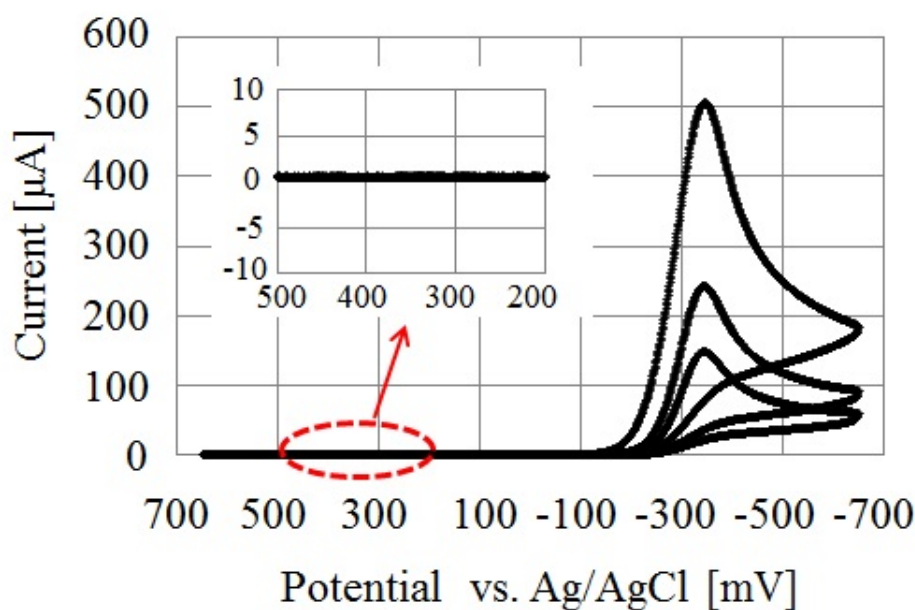


図 3.7: 電極とバイポーラトランジスタのサイクリックボルタモグラム

### 3.3.2 バイポーラトランジスタとダイオードを用いた原理検証

原理検証の方法は 3.3.1 に記述した方法と同様である。市販のバイポーラトランジスタとダイオード (50SQ100) を挿入した場合の回路図を図 3.8 に示す。図 3.8 は、バイポーラトランジスタのエミッタ-ベース間にダイオードを挿入した回路となっており、酸化電流と還元電流の両方が流せるようになっている。ダイオードを付加することにより酸化電流も流せるようになるため、酸化と還元のバランスが保たれるため還元ピーク電流が減少しないことが推測される。図 3.9 に電極とバイポーラトランジスタ、ダイオードのサイクリックボルタモグラムの結果を示す。初回の還元ピーク電流は、溶液の平衡状態が初回は不均一であるため還元ピーク電流が高くなっていることが推測される。2 回目以降の結果から、還元ピーク電流の減少は無くなり、200 mV から 500 mV の拡大図から酸化電流を流せていることも確認できた。結果としてダイオードを挿入することにより、酸化電流を流すことができるため酸化体と還元体のバランスを崩すことなく測定ができることを実証した。しかしながら、ダイオードを挿入することにより酸化ピーク電流地点の電位のシフトが確認された。この原因もバイポーラトランジスタの時と同様で、ダイオードの動作電圧によるものと推測される。次項では、バイポーラトランジスタとダイオードによる電位のシフトについて述べる。

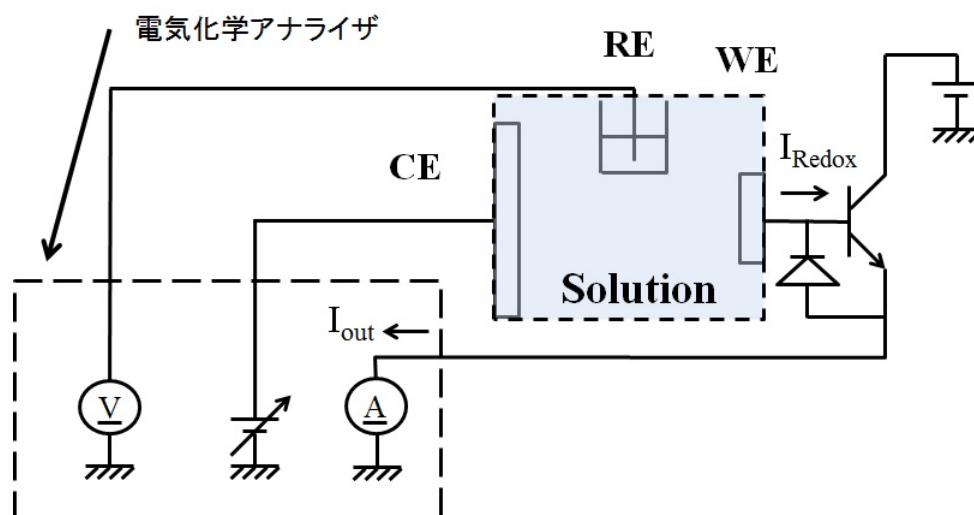


図 3.8: 電極とバイポーラトランジスタ, ダイオードによる測定回路

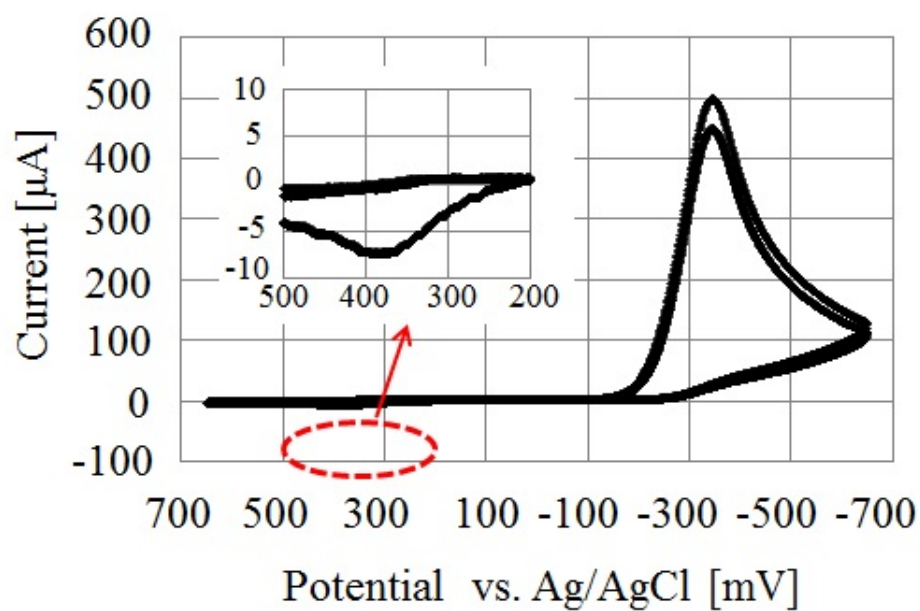


図 3.9: 電極とバイポーラトランジスタ, ダイオードのサイクリックボルタモグラム

### 3.3.3 バイポーラトランジスタとダイオードによる電位のシフトの影響について

3.3.1 節と 3.3.2 節の結果から、バイポーラトランジスタとダイオードの動作電圧の影響と考えられる電位のシフトが確認された。これがバイポーラトランジスタとダイオードの動作電圧であるか検証するため、市販のバイポーラトランジスタとダイオードの特性から測定結果を正規化した。バイポーラトランジスタにおいては電流の増幅も行っているため、 $H_{fe}$  の正規化も行った。具体的には、バイポーラトランジスタとダイオードを用いた測定結果から、バイポーラトランジスタの動作電圧、増幅度から正規化、ダイオードも動作電圧で正規化した。その結果を図 3.10 に示す。青線の結果が電極のみの結果であり、赤線がバイポーラトランジスタ、緑線がダイオードの特性から正規化した結果である。図 3.10 から、正規化したグラフと電極のみの結果がほぼ一致することが実証されバイポーラトランジスタとダイオードの動作電圧の影響であることが明らかになった。結論としてバイポーラトランジスタとダイオードを作用電極と一体化することで酸化還元電流を測定することができ、また、バイポーラトランジスタとダイオードの特性の正規化からバイポーラトランジスタとダイオードの動作電圧の影響により、電位がシフトしていることが明らかになった。この電位のシフトは、予めバイポーラトランジスタとダイオードの特性を把握しておくことで知ることができ、定量評価が可能になる。次節において、増幅型酸化還元センサの設計と作製について述べる。

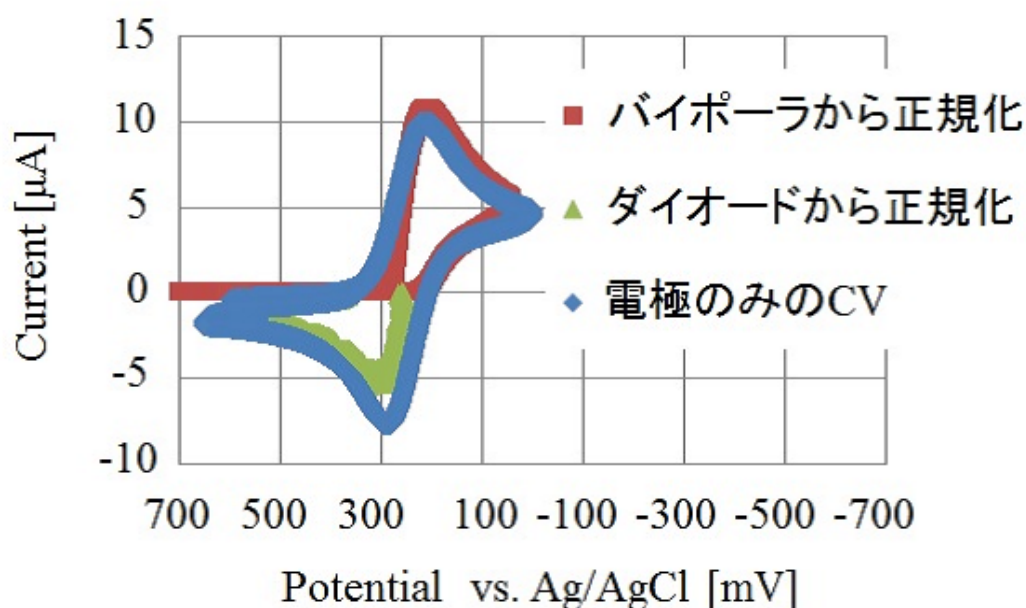


図 3.10: 電極のみとバイポーラトランジスタ、ダイオードの特性から正規化したサイクリックボルタモグラム

### 3.4 増幅型酸化還元センサの設計と作製

#### 3.4.1 バイポーラトランジスタの設計

本項では、増幅型酸化還元センサに用いるバイポーラトランジスタの設計と作製について述べる。バイポーラトランジスタの設計に必要なパラメータと理論式を表 3.2 に示す。  $W_B$  はベース幅 [cm],  $D_n$  は電子の拡散係数 [cm<sup>2</sup>/s],  $D_p$  は正孔の拡散係数 [cm<sup>2</sup>/s],  $N_E$  はエミッタ濃度 [/cm<sup>3</sup>],  $N_B$  はベース濃度 [/cm<sup>3</sup>],  $L_E$  はエミッタ拡散長 [cm],  $L_B$  はベース拡散長 [cm],  $N_A$  はアクセプタ濃度 [/cm<sup>3</sup>] である。今回、電流増幅率である  $H_{fe}$  を 100 倍として設計を行った。  $H_{fe}$  を 100 倍にするため  $W_B$ ,  $N_E$ ,  $N_B$ , エミッタ-ベース間, ベース-コレクタ間の耐圧, エミッタ注入効率を表 3.3 のように設計した。表 3.3 から、プロセスシミュレータとデバイスシミュレータ, 回路シミュレータを統合したシミュレータソフトである T-CAD(Synopsys, Inc) を用い, シミュレーション値と設計値を比較・検討した。T-CAD における濃度プロファイルと電流-電圧特性を図 3.11, 図 3.12, 図 3.13 に示す。図 3.13 の結果より  $H_{fe}$  は最大 120 倍程度と理論式から算出した設計値と誤差が確認された。この理由は、図 3.12 の濃度プロファイルからベース幅が設計値と異なるためであると考えられる。ベース幅は実際のプロセスのアニール時間によって制御可能であるため、この問題はプロセス時にエミッタ領域の濃度拡散のためのアニール時間の条件出しを行うことによって  $H_{fe}$  を 100 倍程度に制御することで解決した。

バイポーラトランジスタは温度特性によってベース-エミッタ間電圧  $V_{BE}$  や  $H_{fe}$  が変化することが知られている [7]。  $V_{BE}$  は約 2 mV/°C で変化する。そのため測定温度範囲が 15 °C ~ 30 °C 環境では  $V_{BE}$  が 30 mV 変化する。  $H_{fe}$  は 0.5%/°C で変化する。同様に測定温度範囲が 15 °C ~ 30 °C 環境では  $H_{fe}$  が 7% 変化する。そのため、実際に現場で使用する際はこれらを考慮する必要がある。また、半導体プロセスによるばらつきも考慮する必要がある。ばらつきにはウェハー間でのばらつき、ウェハー内でのばらつき、チップ間でのばらつき、トランジスタ間でのばらつきがある [8]。そのため、半導体プロセスでは、ばらつきを抑え、再現性の高いデバイスを作製することで、バイポーラトランジスタの  $V_{BE} - I_B, I_C$  特性が変化による校正は必要なくなると考えられる。

表 3.2: バイポーラトランジスタのパラメータと理論式 [9]

増幅率 $H_{fe}$	$\beta = \frac{1}{\frac{W_B^2}{L_B^2} + \frac{D_p}{D_n} \frac{N_B}{N_E} \frac{W_B}{L_E}}$
エミッタ-ベース間の耐圧 [V]	$BV = \frac{\epsilon_{si} \epsilon_0 E_{crit}^2}{2qN_A}$
ベース-コレクタ間の耐圧 [V]	$BV = \frac{\epsilon_{si} \epsilon_0 E_{crit}^2}{2qN_A}$
エミッタ注入効率	$\gamma = \frac{1}{1 + \frac{\rho_E}{\rho_B} \frac{W_B}{L_E}}$



表 3.3: バイポーラトランジスタの設計値

$W_B$ ベース幅 [nm]	400
$N_E$ : エミッタ濃度 [/cm <sup>3</sup> ]	$3 \times 10^{19}$
$N_B$ : ベース濃度 [/cm <sup>3</sup> ]	$1 \times 10^{17}$
エミッタ: ベース間の耐圧 [V]	2.96
ベース: コレクタ間の耐圧 [V]	14.81
エミッタ注入効率	0.999...

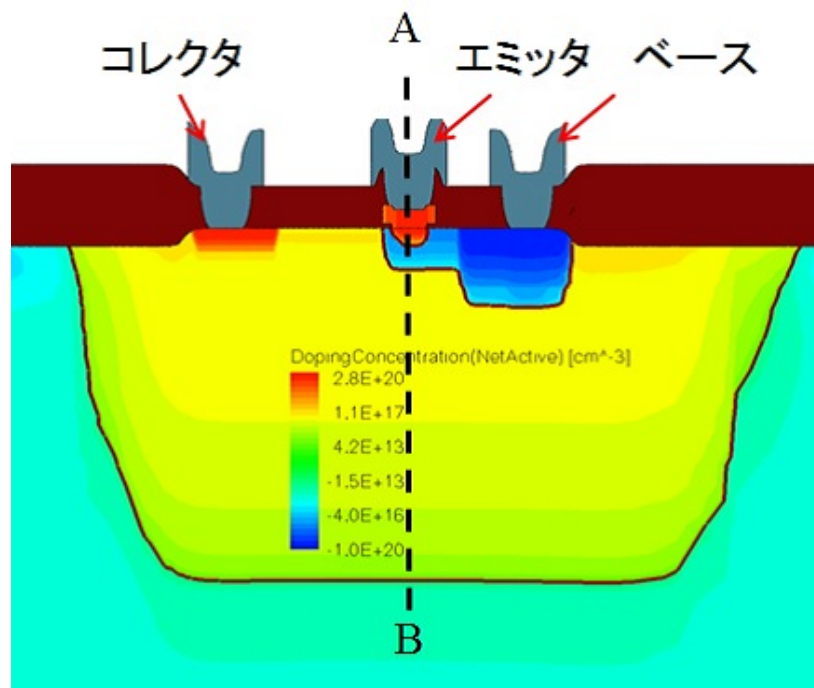


図 3.11: シミュレーションによるバイポーラトランジスタの濃度プロファイル (2D)

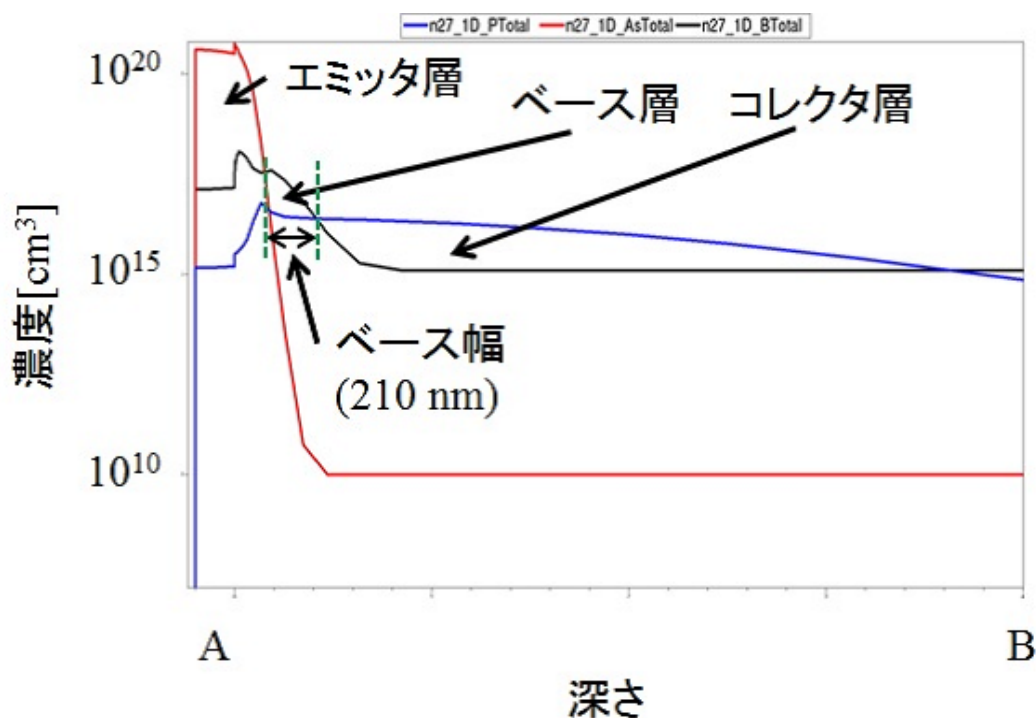


図 3.12: シミュレーションによるバイポーラトランジスタの濃度プロファイル (1D)

### 3.4.2 バイポーラトランジスタの作製

本項では、バイポーラトランジスタの作製プロセスについて述べる。バイポーラトランジスタの作製は本学の固体機能デバイス施設で行った。またバイポーラトランジスタの作製は本学において作製例が少なく、作製環境も変化しているため、本学の  $5\ \mu\text{m}$  MOS プロセスを参考に作製した。プロセスチャートは付録 A に記述する。プロセスで使用したウェハを表 3.4 に示す。今回、バイポーラトランジスタを作製する上で、重要になるのが  $H_{fe}$  である。3.4.1 節で述べたように、ベース幅が理論値とシミュレーション値で 2 倍程度異なる結果が得られた。そこで、エミッタ領域への As のドーズ量とアニール時間によりベース幅を調整することによって n-p-n バイポーラトランジスタの特性の条件振りを行った。ドーズ量、アニール時間の条件を表 3.5 に、アニール時間による結果のまとめを図 3.14 に示す。図 3.14 の結果から、エミッタ濃度  $5 \times 10^{15}/\text{cm}^2$ 、アニール時間 80 min のときに  $H_{fe}$  が 100 倍になることが条件出しより明らかとなった。また他の条件時の結果を付録 B にまとめた。本プロセスにおいてはこの条件により、バイポーラトランジスタを作製した。作製したバイポーラトランジスタの電圧-電流特性を図 3.15 に示す。また、作製したバイポーラトランジスタの耐圧を図 3.16 に示す。表 3.3 の設計値よりもベース-コレクタ間で 10 V、ベース-エミッタ間で 1.5 V となったが、今回の測定においては +1 V から -1 V までの測定範囲なので影響はないと考えられる。

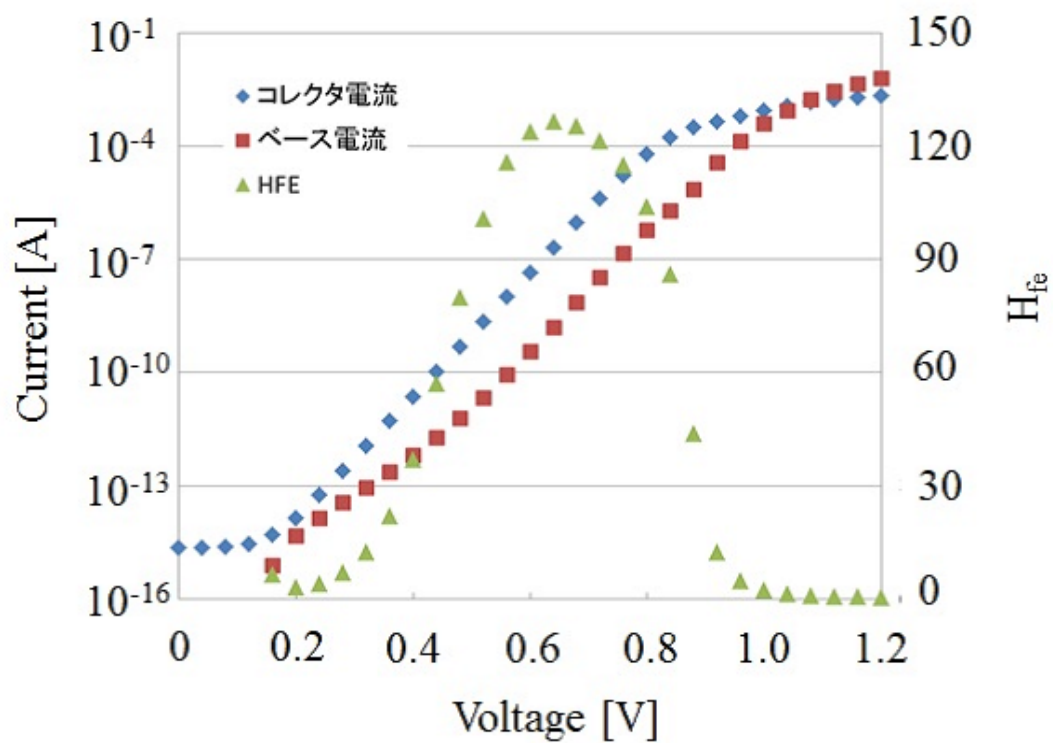


図 3.13: シミュレーションによるバイポーラトランジスタの電圧-電流特性

表 3.4: プロセスで使したウェハ

直径	$100.0 \pm 0.5$ mm
厚さ	$525.0 \pm 25.0$ $\mu\text{m}$
結晶軸	(1.0.0)
伝導型	p
抵抗率	$11.3 \Omega \cdot \text{cm}$

表 3.5: ドーズ量とアニール時間の条件

ドーズ量 [ $\text{cm}^2$ ]	アニール時間 [min]
$3 \times 10^{15}$	20,40,60,80
$5 \times 10^{15}$	20,40,60,80
$1 \times 10^{16}$	20,40,60,80

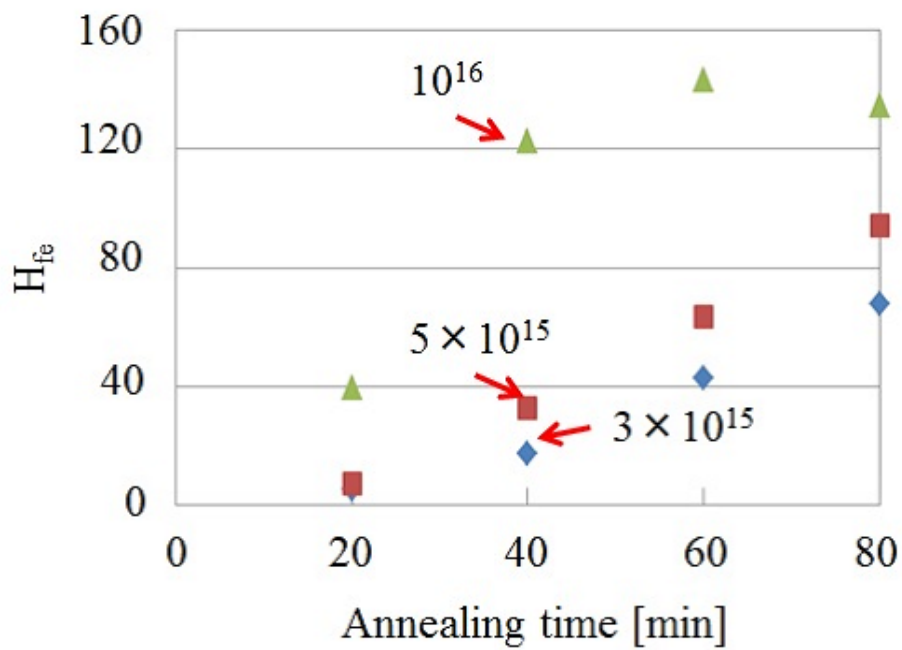


図 3.14: アニール時間による結果

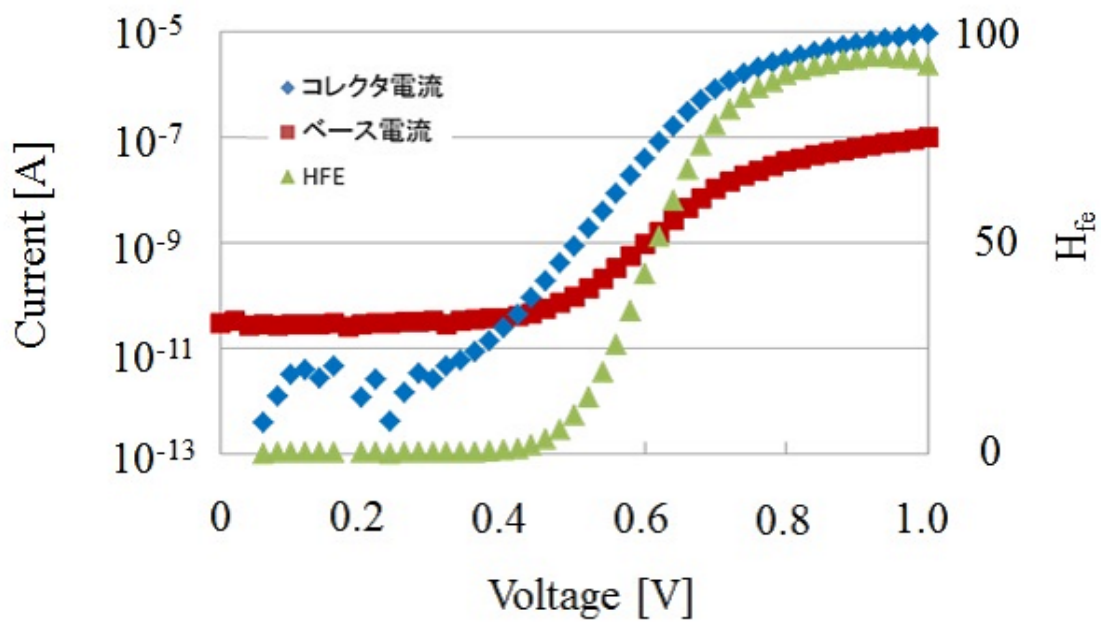


図 3.15: バイポーラトランジスタの電圧-電流特性

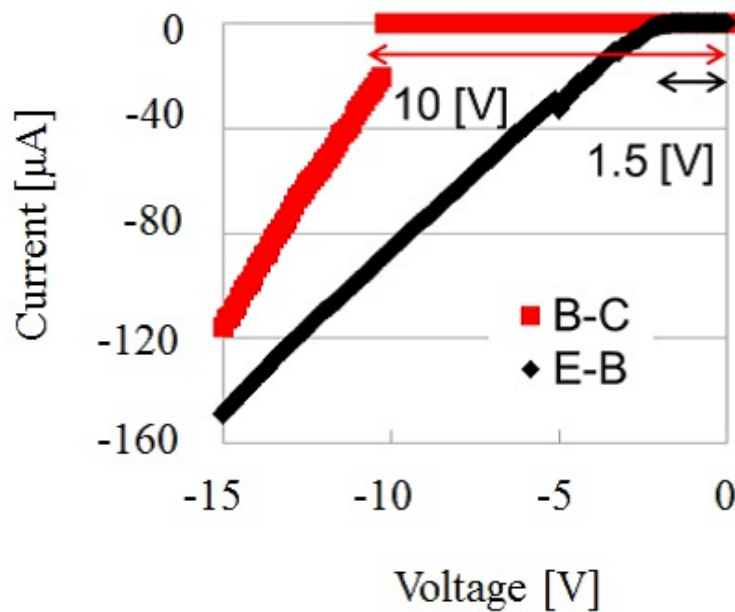


図 3.16: 作製したバイポーラトランジスタの耐圧

### 3.5 増幅型酸化還元センサの評価と課題

#### 3.5.1 増幅型酸化還元センサの評価

作製した増幅型酸化還元センサと測定環境を図 3.17, 図 3.18, 図 3.19 に示す. 作製したチップのサイズは  $5\text{ mm} \times 5\text{ mm}$  であり, 作用電極のサイズは  $200\text{ }\mu\text{m}^2$ ,  $100\text{ }\mu\text{m}^2$ ,  $20\text{ }\mu\text{m}^2$ ,  $10\text{ }\mu\text{m}^2$ ,  $2\text{ }\mu\text{m}^2$ ,  $1\text{ }\mu\text{m}^2$ ,  $0.8\text{ }\mu\text{m}^2$  のサイズがチップ内に含まれている. また, チップの中央には対向電極 ( $500\text{ }\mu\text{m}^2$ ) を配置した. 2.2 節で述べた理由から, 参照電極は外付けにし, 電気化学アナライザ (CV50W, BAS) を用いて, 標準試薬であるフェリシアン化カリウム  $100\text{ }\mu\text{M}$ ,  $1\text{ mM}$ ,  $10\text{ mM}$ ,  $100\text{ mM}$  を用いて CV 法で測定した. 作用電極は  $200\text{ }\mu\text{m}^2$  のときの結果を図 3.20, 図 3.21, 図 3.22, 図 3.23 に示す. 図 3.20 より, 作製した酸化還元センサにおいて, 電極のみに比べ, 還元電流の 75 倍増幅に成功した. また, 電極のみの測定結果と比べ, 電圧のシフトが確認された. この電圧のシフトはバイポーラトランジスタの動作電圧分のシフトである. これは, 原理検証の段階でバイポーラトランジスタの特性から正規化し, 評価が可能であることを確認済みである. 図 3.24 に濃度依存性を還元ピーク電流の値で表したものを示す. 図 3.24 より, 還元電流が 75 倍～110 倍に増幅されたことがわかる. また,  $100\text{ }\mu\text{M}$  の電極のみは, 測定装置の検出限界レンジが  $100\text{ nA}$  レンジであるため, 酸化還元電流が揺らいでしまっているが, 増幅型酸化還元センサでは, 電流が増幅され測定装置の測定レンジ内になることで還元電流が装置の検出限界によらず測定できていることがわかる.

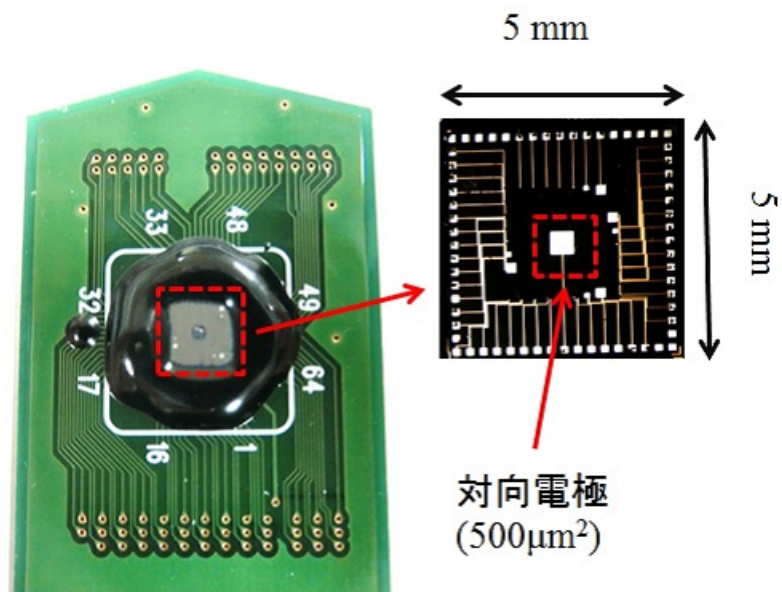


図 3.17: 作製した増幅型酸化還元センサ

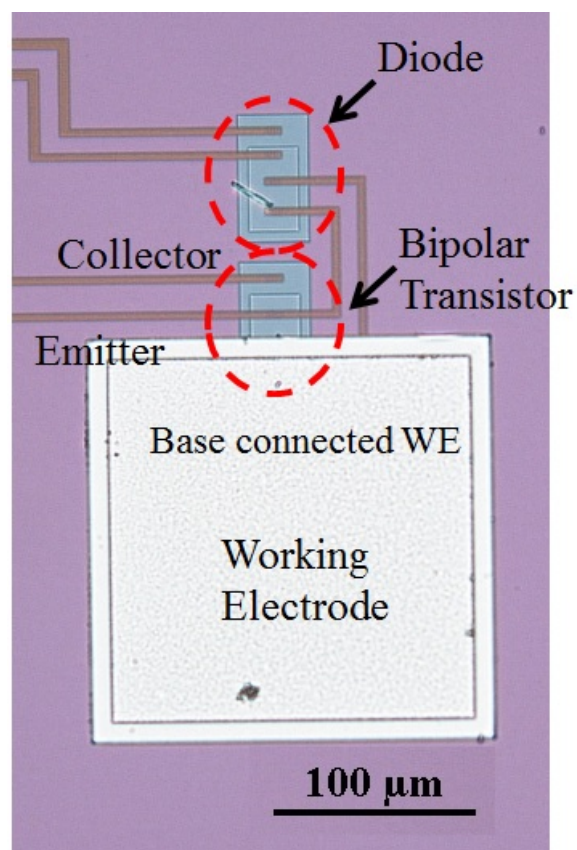


図 3.18: 作製した増幅型酸化還元センサの拡大図



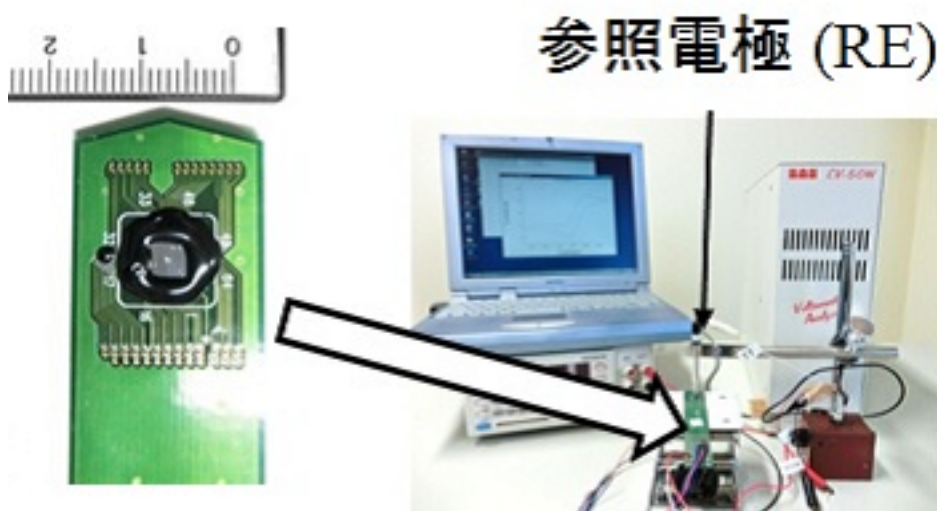


図 3.19: 測定環境

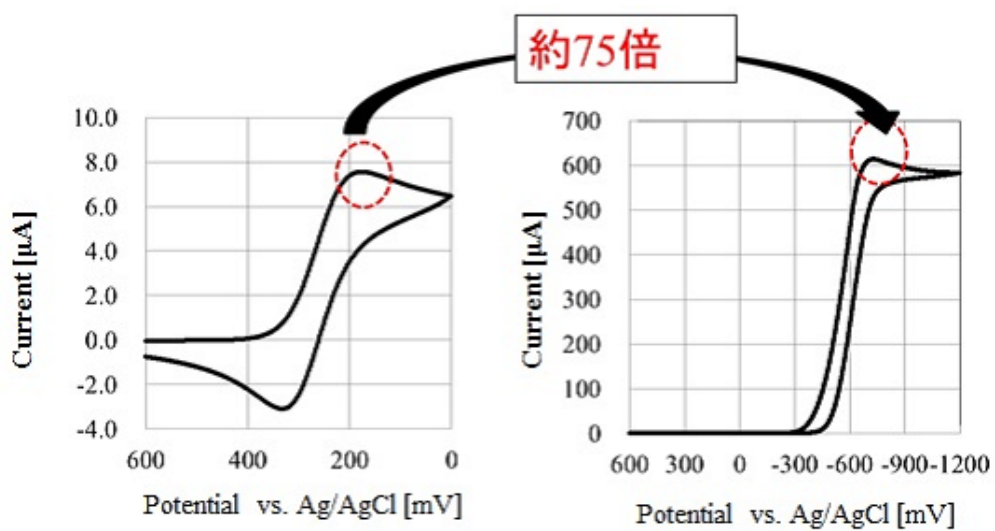


図 3.20: フェリシアン化カリウムの測定結果 (100 mM)

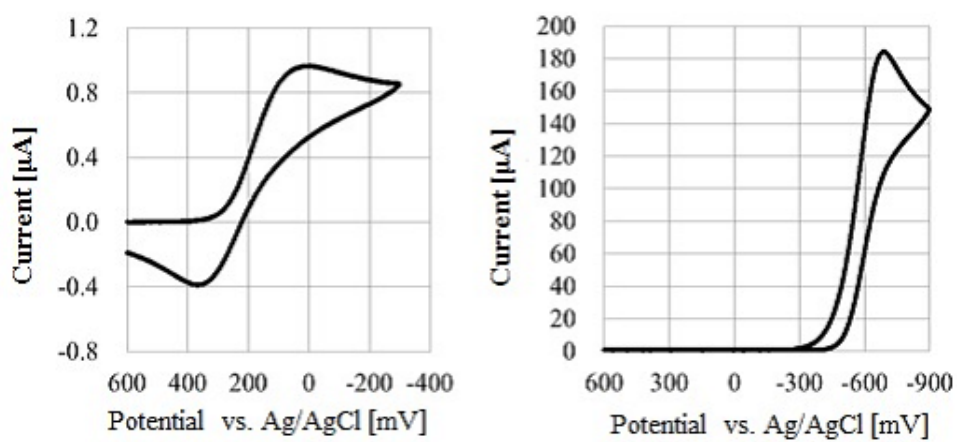


図 3.21: フェリシアン化カリウムの測定結果 (10 mM)

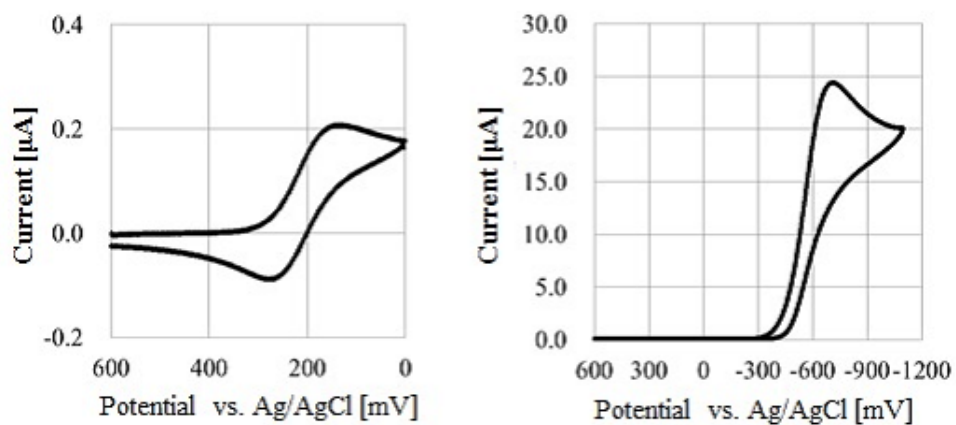


図 3.22: フェリシアン化カリウムの測定結果 (1 mM)



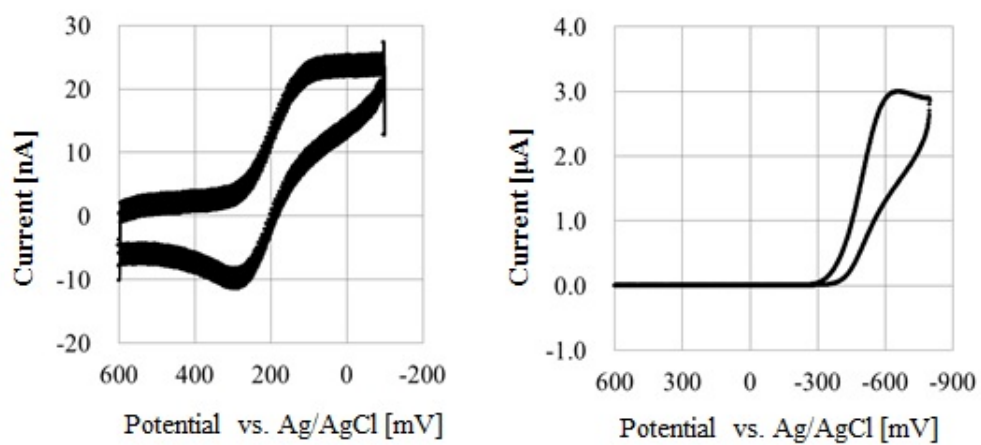


図 3.23: フェリシアン化カリウムの測定結果 (100  $\mu\text{M}$ )

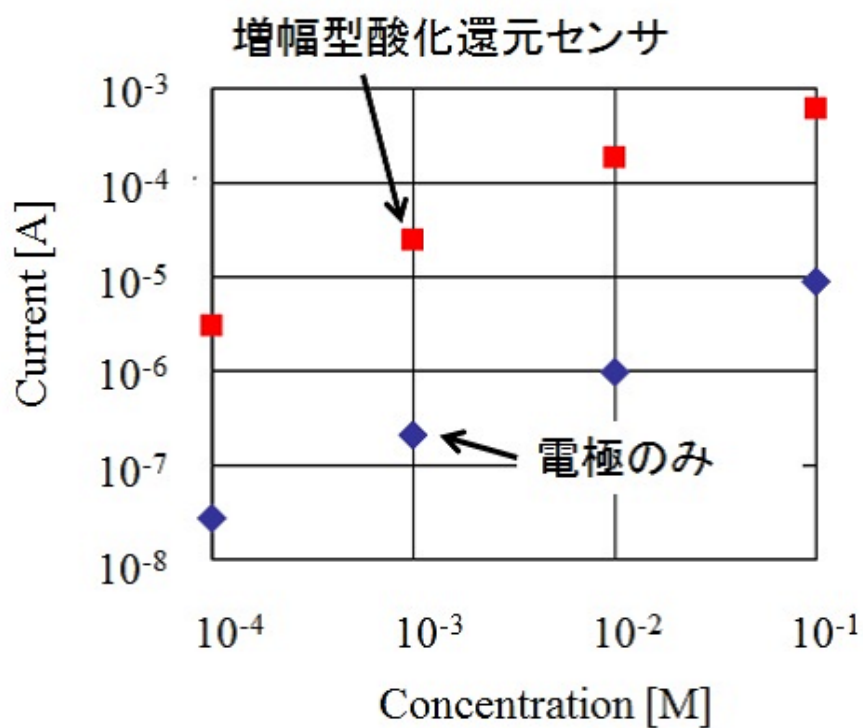


図 3.24: フェリシアン化カリウムの濃度依存性

### 3.5.2 増幅型酸化還元センサの課題

3.5.1 節から、増幅型酸化還元センサとして使用した場合、75 倍から 110 倍に還元電流が増幅を確認した。また、装置の検出限界レンジから、測定限界により測定結果が揺らいでいた結果が、電流を増幅することで装置の測定レンジ内にすることで測定できるようになった。しかしながら、バイポーラトランジスタは整流性をもっているため、今回のように n-p-n バイポーラトランジスタを用いた場合、還元電流しか増幅することはできない。さらに、酸化電流を流すためにダイオードを付加したセンサでは、回路規模が増大してしまい、ダイオードでは増幅することはできない。両方の電流を増幅するためには、n-p-n 型と p-n-p 型のバイポーラトランジスタを作製することにより達成できる。しかしながら、プロセスが複雑化することや両方のバイポーラトランジスタを作製する場合、高い増幅度を達成することが困難である [11]。さらにバイポーラトランジスタによる増幅はバイポーラトランジスタのベース端子に酸化還元電流が直接流れるためバイポーラトランジスタの電圧-電流特性から増幅度が変化してしまい、微小電流を測定する際に、バイポーラトランジスタの動作電圧以下の電流はバイポーラトランジスタが動作しなくなり、微小電流測定に不向きである。図 3.25 に、低濃度におけるバイポーラトランジスタの電流増幅の計算結果を示す。100  $\mu\text{M}$  までは図 3.24 の結果であり、10  $\mu\text{M}$  以下は電極のみの結果の濃度の比例関係から算出した。増幅した結果では、電極のみの計算結果の電流がバイポーラトランジスタに流れた時の電流をバイポーラトランジスタの電圧-電流特性から計算しプロットした結果となっている。この結果から低濃度になると電流が減少し、さらに低濃度になるとバイポーラトランジスタで増幅できなくなることが推測される。そのため、バイポーラトランジスタの増幅度を制御し微小電流においても増幅できるように改善する必要がある。そこで、本研究においてベース端子に酸化還元電流とは別にバイポーラトランジスタを常時動作させるためのバイアス源を挿入することを提案した。詳細は次章で述べる。

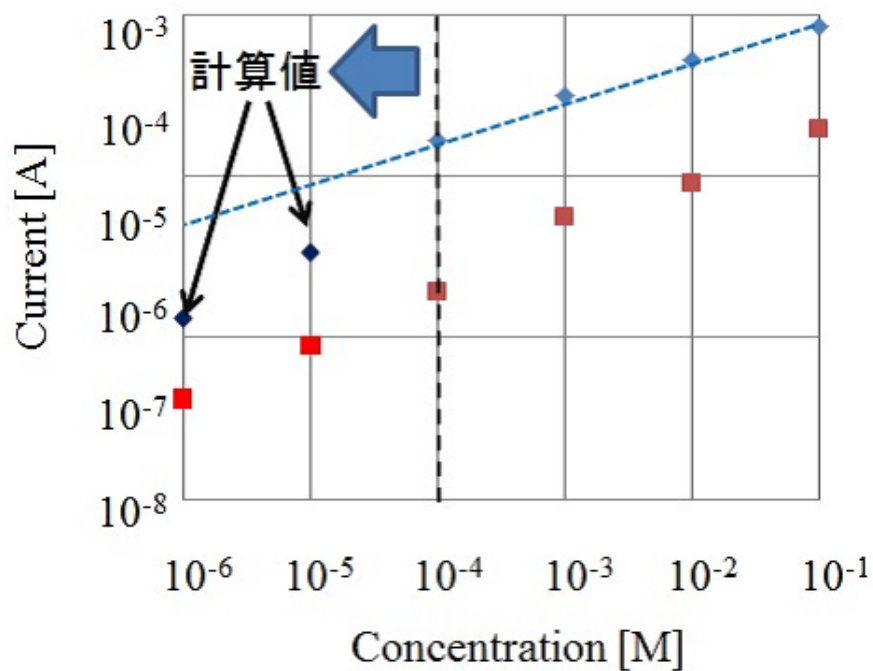


図 3.25: 低濃度におけるバイポーラトランジスタの電流増幅

### 3.6 まとめ

第3章では、増幅型酸化還元センサの特徴、市販のバイポーラトランジスタとダイオードを用いた原理の検証、増幅型酸化還元センサの設計と作製、増幅型酸化還元センサの評価と課題について述べた。バイポーラトランジスタはMOSFETと比較して低周波ノイズが低いことが知られており、単素子において高い増幅が行える。そこで、市販のバイポーラトランジスタとダイオードを用いた原理の検証を行った。実際に応用可能かどうか検証を行い、増幅型酸化還元センサの設計と作製を行った。作製した増幅型酸化還元センサを用いた結果、還元電流の75倍から110倍の増幅に成功した。しかしながら、今回のようにn-p-nバイポーラトランジスタを用いた場合、還元電流しか増幅することはできない。その問題への提案と結果については次章で述べる。

## 参考文献

- [1] W. Sansen, A. Claes, D. De Wachter, L. Callewaert, and M. Lambrechts, “A smart sensor for biomedical applications,” *Images Twenty-First Century. Proc. Annu. Int. Eng. Med. Biol. Soc.*, pp. 1088-1089, 1989.
- [2] Y. Huang and A. J. Mason, “A redox-enzyme-based electrochemical biosensor with a CMOS integrated bipotentiostat,” *2009 IEEE Biomed. Circuits Syst. Conf. BioCAS 2009.*, pp. 29-32, 2009.
- [3] G. Ferrari, F. Gozzini, A. Molari, and M. Sampietro, “Transimpedance amplifier for high sensitivity current measurements on nanodevices,” *IEEE J. Solid-State Circuits.*, vol. 44, no. 5, pp. 1609-1616, 2009.
- [4] Dongsoo Kim, B. Goldstein, Wei Tang, F. J. Sigworth, and E. Culurciello, “Noise analysis and performance comparison of low current measurement systems for biomedical applications,” *IEEE Trans. Biomed. Circuits Syst.*, vol. 7, no. 1, pp. 52-62, 2013.
- [5] V. Balasubramanian, P. F. Ruedi, Y. Temiz, A. Ferretti, C. Guiducci, and C. C. Enz, “A 0.18  $\mu\text{m}$  biosensor front-end based on 1/f noise, distortion cancelation and chopper stabilization techniques,” *IEEE Trans. Biomed. Circuits Syst.*, vol. 7, no. 5, pp. 660-673, 2013.
- [6] Sze, Simon Min. *Semiconductor devices: physics and technology*. John Wiley & Sons, 2008.
- [7] A Comparison of Various bipolar transistor Biasing Circuits Application Note 1293, Agilent 社, <https://www3.nd.edu/~hscdlab/pages/courses/microwaves/labs/Agilent1293.pdf>
- [8] 佐藤淳一, 図解入門よくわかる最新半導体プロセスの基本と仕組み, 秀和システム, 2010.
- [9] S. M. Sze and K. K. Ng, “Physics of Semiconductor Devices, 3rd Edition - Simon M. Sze, Kwok K. Ng,” *Phys. Semicond. Devices*, 3rd Ed. John Wiley Sons, 2007.
- [10] npn bipolar transistor datasheet : <http://www.alldatasheet.jp/datasheet-pdf/pdf/82632/ETC/2SC2238.html>
- [11] 永田 穰, 柳井 久義, 集積回路工学〈1〉プロセス・デバイス技術編 (大学講義シリーズ), コロナ社, 2005.

## 第4章 増幅型酸化還元センサの検出限界の改善と評価

### 4.1 はじめに

作製した増幅型酸化還元センサはバイポーラトランジスタと作用電極が一体化した構造となっており、第3章で述べたように還元電流を75から110倍の増幅に成功した[1]。しかしながら、n-p-n バイポーラトランジスタ単素子を用いた増幅型酸化還元センサはバイポーラトランジスタの持つ整流性から酸化電流を増幅し流すことはできない。また、3.5.2で述べたように、バイポーラトランジスタのベース端子に酸化還元電流が直接流れるためバイポーラトランジスタの電圧-電流特性から増幅度が変化してしまい、単純に定量評価できないという課題がある。さらに、微小電流を測定する際、バイポーラトランジスタの動作電圧以下の電流はバイポーラトランジスタが動作しなくなり、微小電流測定に不向きである。両方の電流を増幅するためにはn-p-n型とp-n-p型のバイポーラトランジスタを作製することによって達成できる。しかしながら、プロセスが複雑化することや両方のバイポーラトランジスタを作製する場合、高い増幅度を達成することが困難である。

本研究では、作製した増幅型酸化還元センサの特徴である単素子において電流の増幅が可能である特徴を活かしつつこれら2つの課題に対し、酸化電流の増幅と微小電流の測定が可能な新たな測定システムを提案した[2]。また、低周波数の電圧を印加して測定を行う電気化学測定法において、低周波ノイズが小さい増幅器が求められる。本研究では低周波ノイズが小さいことが知られているバイポーラトランジスタを基に増幅型酸化還元センサを作製した。本章では増幅型酸化還元センサとMOSにより構築したトランスインピーダンスアンプ(TIA: Transimpedance Amplifier)の低周波ノイズを比較・検討した。本章では、提案した測定システムと増幅型酸化還元センサの低周波ノイズの評価に関して述べる。

### 4.2 提案した測定システムの動作原理

開発した増幅型酸化還元センサの課題を整理したものを以下に示す。

- 酸化電流の増幅可能であること
- 微小電流の測定が可能であること

そこで、本研究においてバイポーラトランジスタのベース端子に酸化還元電流とは別にバイポーラトランジスタを常時動作するためのバイアス電流源を挿入した測定システムを提案した[2]。提案した測定システムの回路図を図4.1に示す。赤い点線で囲まれた部分が開発した増幅型酸化還元センサであり、青い点線で囲まれた部分がバイアス源となる電流源である。提案した測定システムでは電流源を2つ挿入した構成になっており、作用電極-バイポーラトランジスタのベース間とバイポーラトランジスタのエミッタ-電気化学アナライザの電流計間に電流源を挿入した構成になっている。この場合のバイポーラトランジスタのベース端子に流れる電流は次式で表される。

$$I_B = (I_{Redox} + I_{offset})$$

$$I_{offset} \gg I_{Redox} \quad (4.1)$$

この時、オフセット電流  $I_{offset}$  を酸化還元電流  $I_{Redox}$  より十分大きくすることにより  $I_{offset}$  の増幅度である  $H_{fe-offset}$  に固定化することができる。バイポーラトランジスタによって増幅された電流は次式のようになる。

$$I_{amp} = (I_{Redox} + I_{offset})H_{fe-offset} \quad (4.2)$$

$I_{offset}$  の電流における増幅度である  $H_{fe-offset}$  で  $I_{offset}$  と  $I_{Redox}$  が増幅される。このとき、 $I_{offset}$  も増幅され出力されるため、最後に増幅された  $I_{offset}$  を差し引くための電流  $I_{sub}$  を電流計とエミッタの間に挿入することにより増幅された測定電流のみ測定を行うことが可能になる。 $I_{sub}$  はバイポーラトランジスタの増幅度と  $I_{offset}$  からあらかじめ算出することができるため最終的な出力電流は次式で表される。

$$\begin{aligned} I_{output} &= I_{amp} - I_{sub} \\ &= (I_{redox} + I_{offset})H_{fe-offset} - I_{offset}H_{fe-offset} \\ &= I_{redox}H_{fe-offset} \end{aligned} \quad (4.3)$$

この方法によって常にバイポーラトランジスタを動作状態で使用することができ、固定化された増幅度において酸化還元電流の増幅が可能である。図 4.2 から図 4.5 に、測定フローの模式図を示す。図 4.2 は作用電極以降の回路図と測定される電流を表している。酸化還元電流に電流源からのバイアス電流が合わさり、仮に  $40 \mu A$  のバイアス電流が加えられたとすると図 4.3 のように、 $40 \mu A$  のオフセットが加わったような電流値が結果として出力される。その電流値が  $I_{offset}$  の増幅度である 100 倍に増幅されると図 4.4 のような結果を得ることができる。このとき、バイアス電流によって信号が片方の電流値 (例では正の電流) の増減で測定が行うことができるためバイポーラトランジスタ単素子において酸化電流の増幅が可能となる。最終的にオフセット電流とバイポーラトランジスタの増幅度が既知であるためその電流を差し引くことにより、酸化還元電流のみをバイポーラトランジスタの増幅度で増幅した信号を得ることができる (図 4.5)。そこで、作製した増幅型酸化還元センサにおいて、提案した測定システムが実現可能か検証した。次節に詳細を述べる。

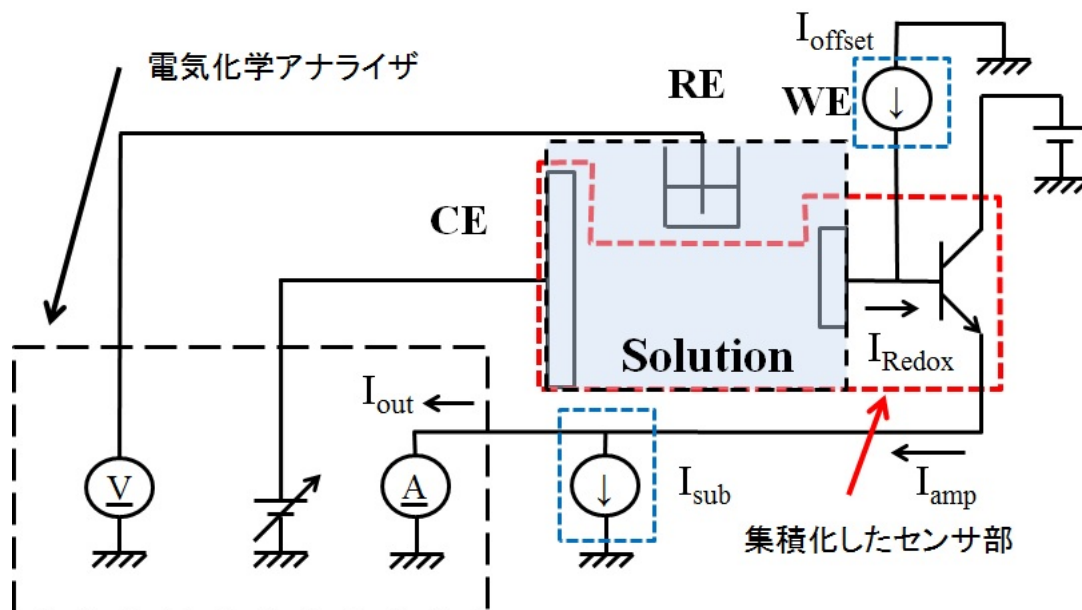


図 4.1: 提案した増幅型酸化還元センサの測定システム

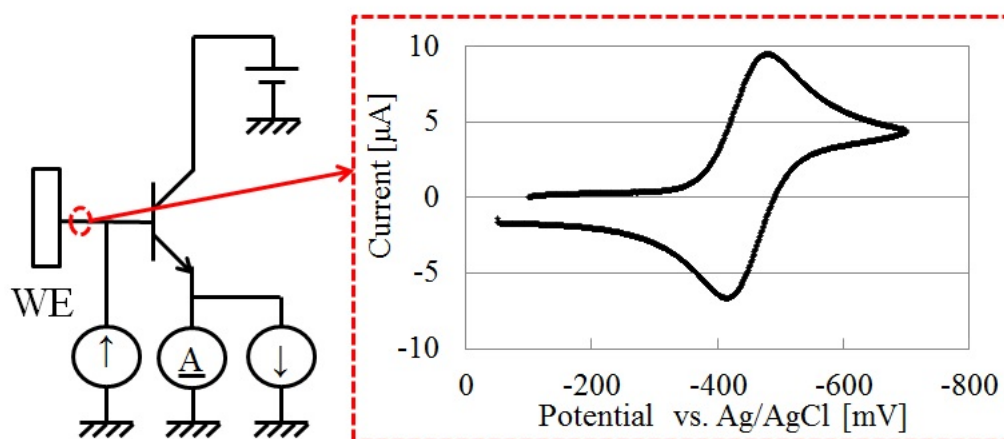


図 4.2: 測定フローの模式図 A

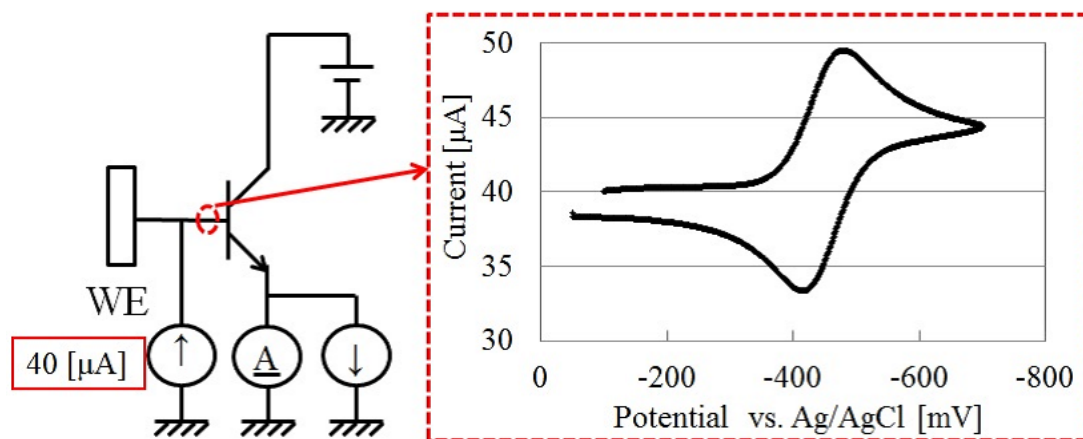


図 4.3: 測定フローの模式図 B

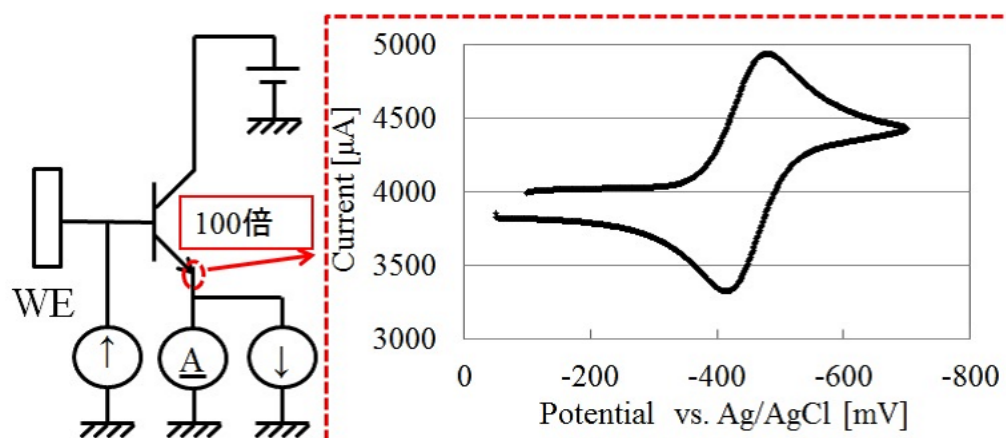


図 4.4: 測定フローの模式図 C



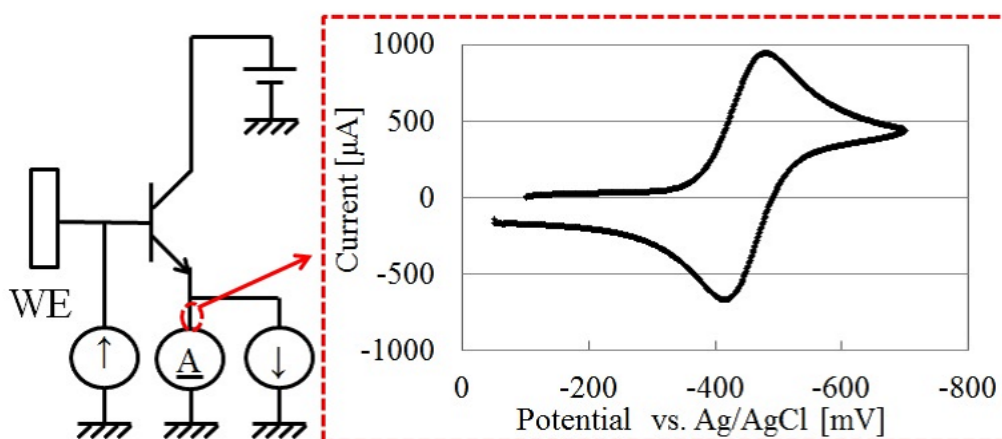


図 4.5: 測定フローの模式図 D

### 4.3 改善された増幅型酸化還元センサの評価

本研究において、提案した測定システムにおいて増幅型酸化還元センサを用いて検証した。図 4.6 に、作製した増幅型酸化還元センサの電圧-電流特性を示す。図 4.6 から、増幅型酸化還元センサの最大増幅率は 113 倍であるため、作用電極とバイポーラトランジスタのベース端子に 113 倍になるように電流源 ( $I_{\text{offset}}$ ) によりオフセット電流を流した。図 4.6 から、113 倍の増幅度にするにあたりオフセット電流を  $1.28 \mu\text{A}$  に設定した。113 倍にするために必要な電流が図 4.6 から  $0.504 \mu\text{A}$  から  $2.06 \mu\text{A}$  の間のベース電流範囲であり、その中間の電流値である  $1.28 \mu\text{A}$  とすることで酸化還元電流が流れることによる増幅度の変動影響が一番抑えることができるためである。そのため、式 (4.1) の条件から酸化還元電流の電流値は  $776 \text{ nA}$  以下の電流の測定となる。また式 4.3 のオフセット電流分の差し引く電流値は次のようになる。

$$I_{\text{sub}} = 1.28 \mu\text{A} \times 113 = 147.64 \mu\text{A} \quad (4.4)$$

実験するにあたり、電流源として電流の設定確度と精度が高い半導体デバイスアナライザ (B1500, Agilent) と電気化学アナライザ (ALS760E, BAS) を使い、外付けの参照電極を使用した。フェリシアン化カリウム  $1 \text{ mM}$  の電極のみの CV 法の測定結果と提案した測定システムを用いた増幅型酸化還元センサの測定結果を図 4.7, 図 4.8 に示す。図 4.8 の結果において、図 4.7 の酸化還元ピーク電流値が 113 倍の増幅に成功した。この結果から、酸化電流を n-p-n バイポーラトランジスタ単素子のみ用いた構成で増幅を達成した。図 4.9 に、フェリシアン化カリウム  $10 \mu\text{M}$  の電極のみの測定結果を示す。図 4.9 に示すように微小な濃度になると酸化還元電流は濃度によって比例で減少してしまうのに加えて、溶液-電極界面における電気 2 重層からの充電電流によりピーク電流値が埋もれてしまうという現象が確認された。これは電気化学測定では必ず起こる現象であるため、この信号を増幅型酸化還元センサで増幅しても、同時に充電電流が増幅されてしまうため、酸化還元電流の検出が困難である。

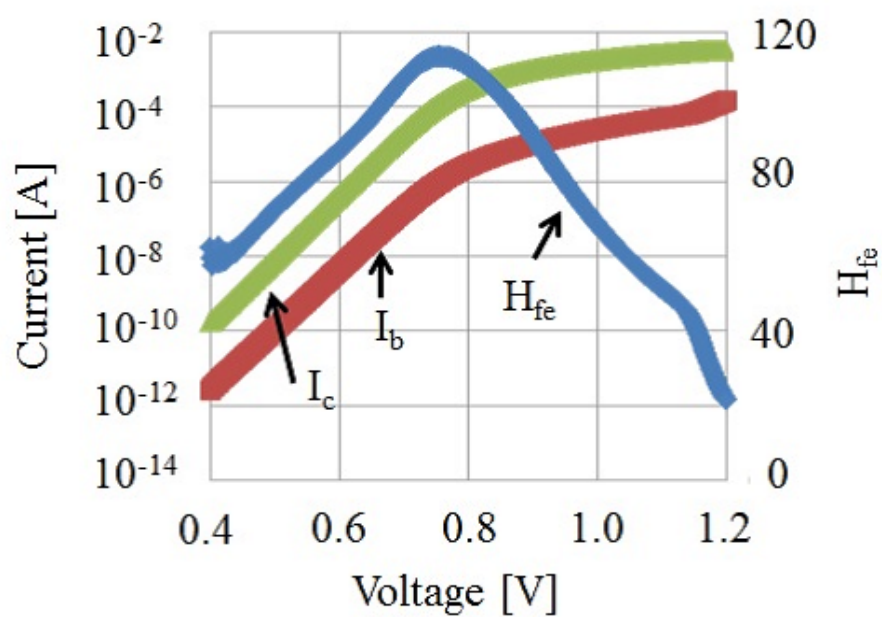


図 4.6: 作製した増幅型酸化還元センサの電圧-電流特性

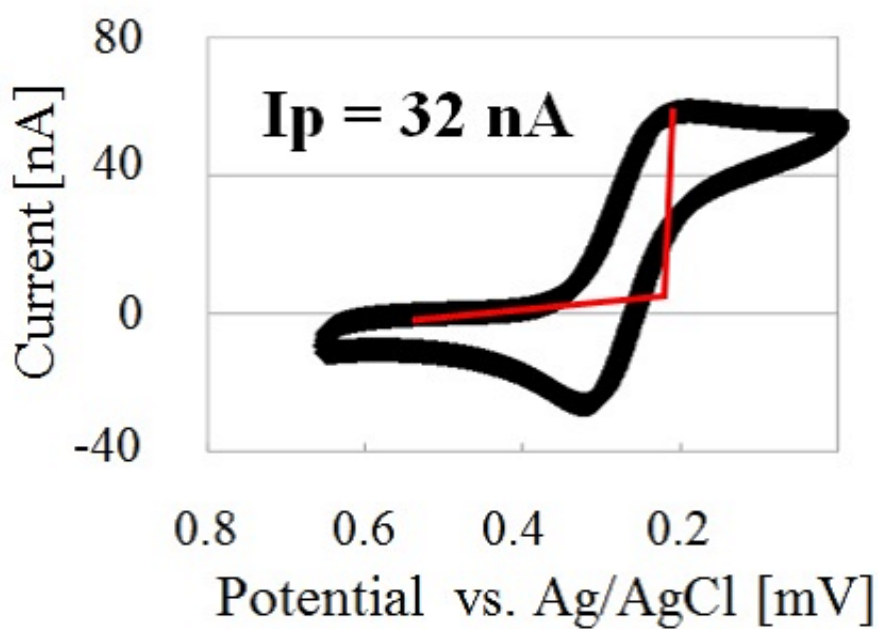


図 4.7: フェリシアン化カリウムの測定結果 (電極のみ)

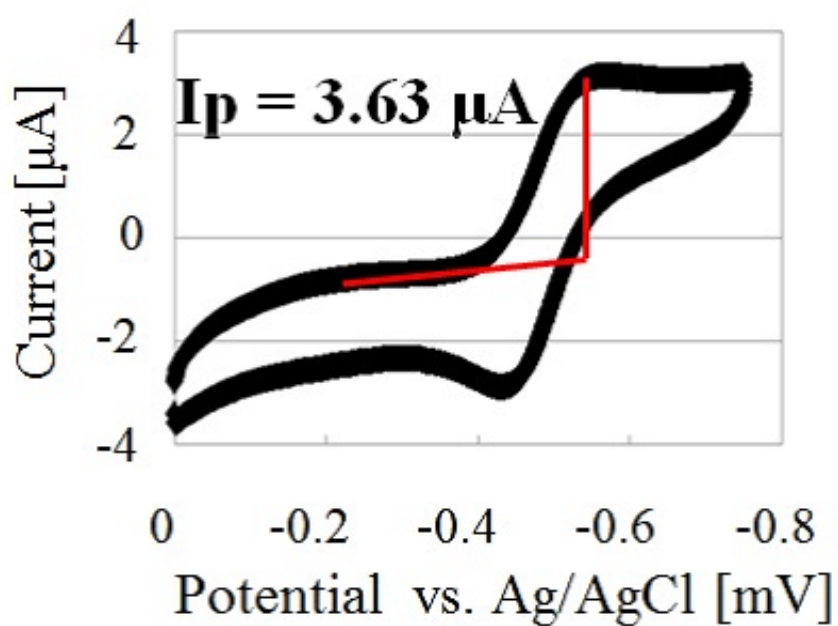


図 4.8: フェリシアン化カリウムの測定結果 (提案した測定システムを使用)

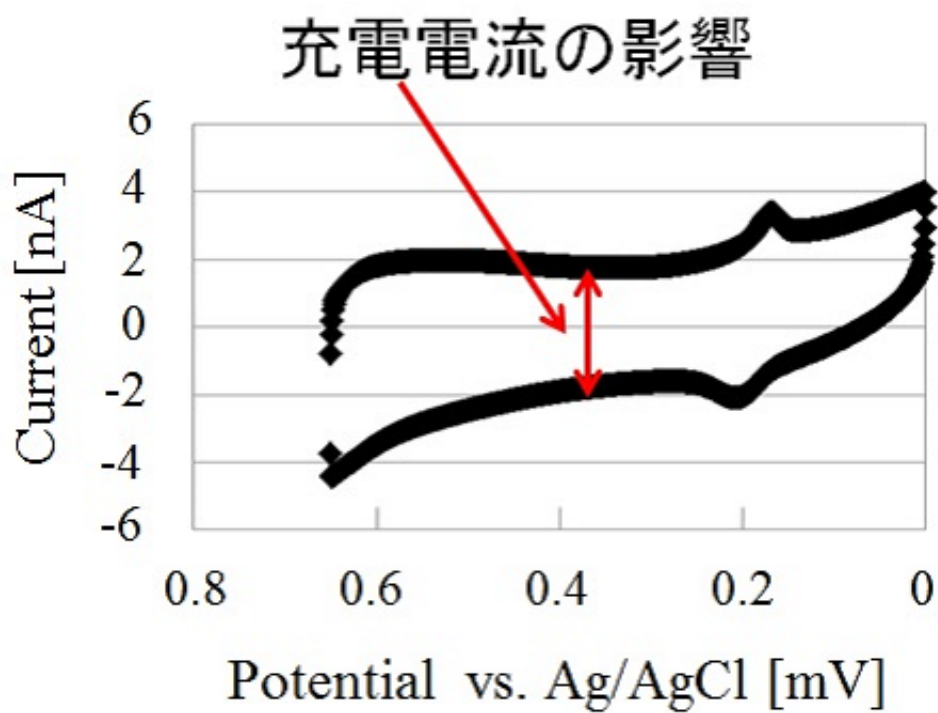


図 4.9: フェリシアン化カリウム  $10 \mu\text{M}$  の測定結果 (電極のみ)

そこで、本研究では、充電電流の影響が少ない電気化学測定法である SWV 法を用いて更なる低濃度のフェリシアン化カリウムの検出を行った。さらに、作製した増幅型酸化還元センサが他の電気化学測定法においても応用が可能かどうか検証を行った。SWV 法については、2.3.2 で述べたように作用電極と参照電極の間に階段状に変化する矩形波を掃引し、作用電極の電位に対する酸化電流と還元電流の差分値を検出する方法である。SWV 法は矩形波を用いることで、電極-溶液界面の電気 2 重層に高速に充放電することが可能なため、放電が終わった後の電流値を取得することができる。SWV 法は充電電流の影響が少ない方法であることが知られている。SWV 法を用いたフェリシアン化カリウム  $10\ \mu\text{M}$  の電極のみの結果と提案した測定システムを用いた増幅型酸化還元センサの測定結果を図 4.10, 図 4.11 に示す。SWV 法を用いることで電極のみににおいて  $10\ \mu\text{M}$  のフェリシアン化カリウムが測定できることを確認できた。また図 4.11 の結果から、電極のみのピーク電流と比較して 146 倍に増幅されていることが確認できた。増幅度に変化している理由としては、2.3.2 節で述べたように離散量のプロットデータとなるため正確なピーク電位を計測することはできないことから増幅度が変化したわけではなく、SWV 法の特長上の問題であることが予想される。図 4.12, 図 4.13 に、SWV 法を用いたフェリシアン化カリウム  $1\ \mu\text{M}$  の電極のみの結果と提案した測定システムを用いた増幅型酸化還元センサの測定結果を示す。図 4.12, 図 4.13 ではピークの底辺が 2 つないためシグモイド波形によるピーク電流の推定を行った。その結果 104 倍に増幅されていることが確認できた。図 4.14 に SWV 法におけるピーク電流値をプロットしたフェリシアン化カリウムの濃度依存性の結果を示す。図 4.14 の結果から、提案した測定システムによって  $1\ \mu\text{M}$  までのフェリシアン化カリウムの検出ができることを確認した。図 4.15 に図 3.25 の結果と今回のバイポーラトランジスタによる増幅された方のピーク電流の結果を示す。図 4.15 からバイポーラトランジスタを常に動作状態で低濃度の増幅が安定して行えることを確認した。今回、原理の検証において、差し引くための電流源を挿入し、実験を行った。差し引くための電流源の目的は、増幅されたオフセット電流を差し引くためであり、提案した測定システムの原理検証用に用いた。今回、測定に用いた CV 法や SWV 法はベースラインからピーク電流の算出を行うため、図 4.8 や図 4.11 の電流のピーク電流を求めるためには電流の絶対値は必要ないため、オフセット電流源のみの構成においてピーク電流を算出することが可能である。また、電流源は半導体技術を用いることで集積化可能であるため、測定系の規模を増大させることなく感度の向上が期待できる。

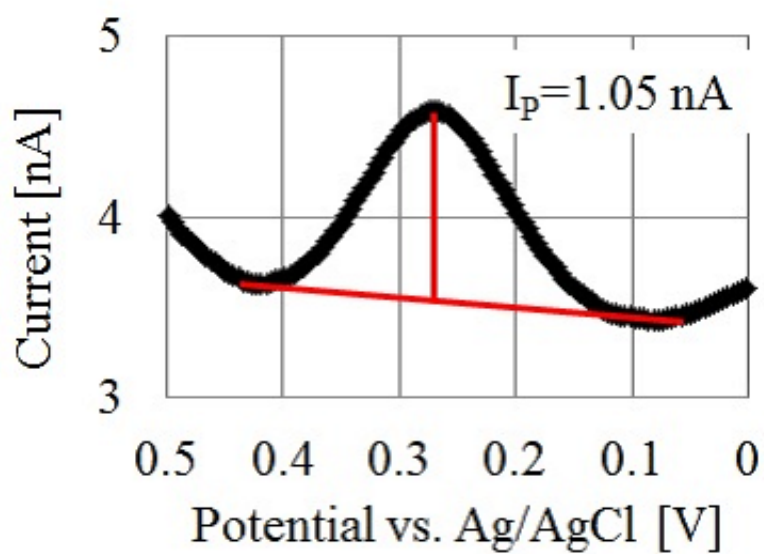


図 4.10: SWV 法を用いたフェリシアン化カリウム  $10 \mu\text{M}$  の測定結果 (電極のみ)

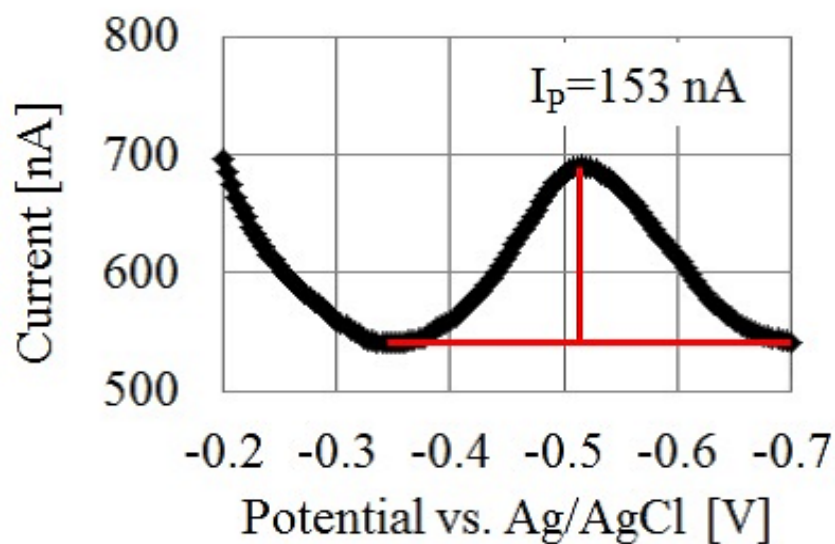


図 4.11: SWV 法を用いたフェリシアン化カリウム  $10 \mu\text{M}$  の測定結果 (提案した測定システムを使用)

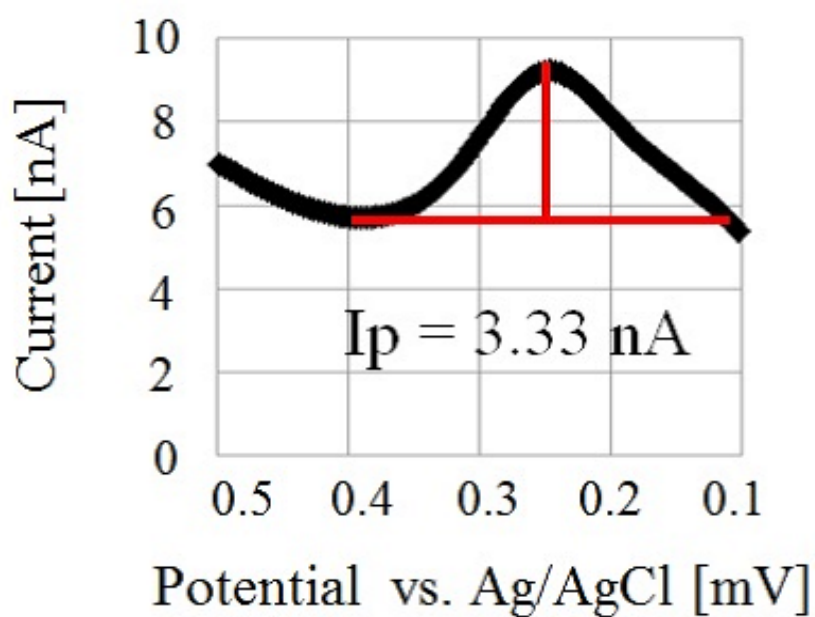


図 4.12: SWV 法を用いたフェリシアン化カリウム  $1 \mu\text{M}$  の測定結果 (電極のみ)

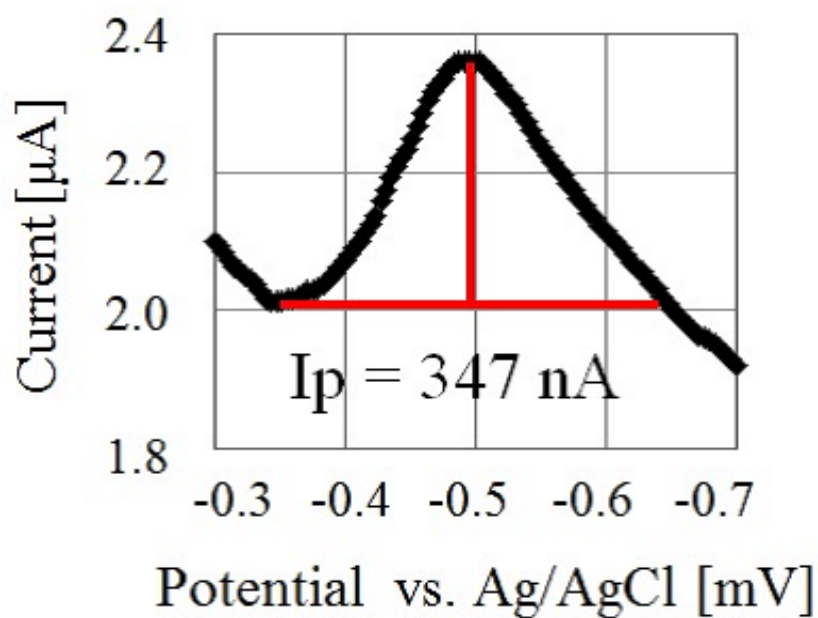


図 4.13: SWV 法を用いたフェリシアン化カリウム  $1 \mu\text{M}$  の測定結果 (提案した測定システムを使用)

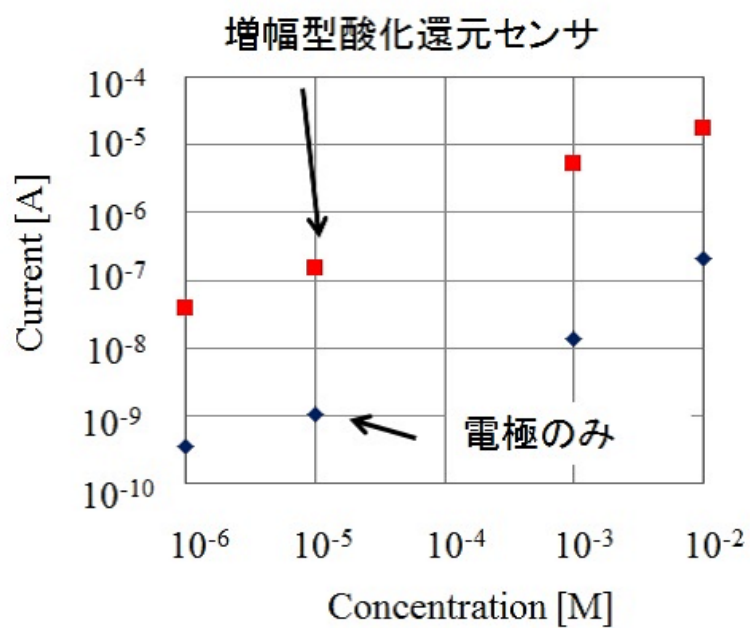


図 4.14: フェリシアン化カリウム濃度依存性

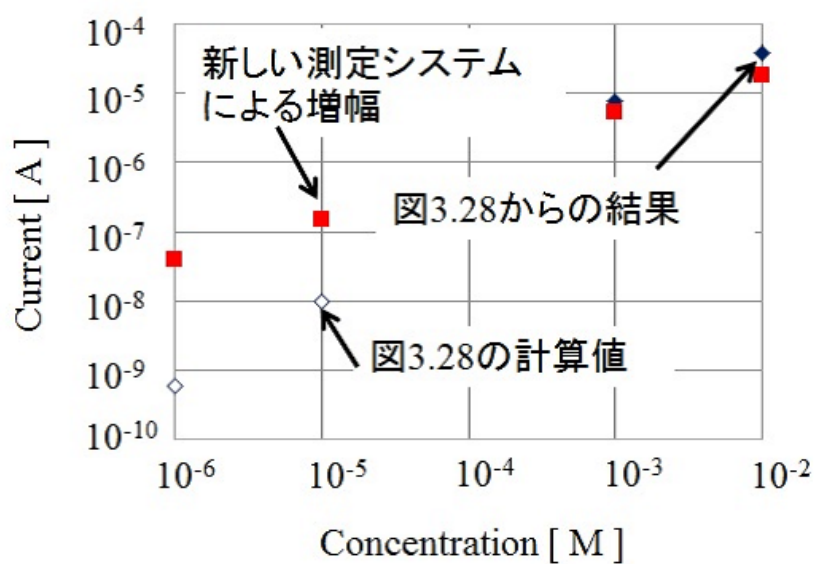


図 4.15: 低濃度における新しい測定システムにおけるバイポーラトランジスタの増幅結果



次に、測定装置の検出限界からの評価について述べる．現場応用向けの電気化学装置として小型化が求められている．図 4.16 に市販されている小型の電気化学装置 (ECstat-101, イーシーフロンティア (株)) [3] を示す．電気化学装置のサイズは  $W \times D \times H : 95 \text{ mm} \times 190 \text{ mm} \times 43 \text{ mm}$  とコンパクトな装置となっている．しかしながら、最小電流レンジが  $\pm 3 \mu\text{A}$  であり、現場測定の要求から不十分である．本研究の増幅型酸化還元センサは増幅機能を有している．本研究では、増幅型酸化還元センサを用いプリアンプの機能を持たせることで、装置の検出限界以下の酸化還元電流を増幅し、装置の検出可能な電流範囲まで増幅させることで検出可能か検証した．検証には最小検出レンジが  $\pm 100 \text{ nA}$  の電気化学装置 (CV50W, BAS), 標準試薬であるフェリシアン化カリウム、測定法として CV 法を用い実験を行った．図 4.17 にフェリシアン化カリウム  $100 \mu\text{M}$  の時の結果を示す．今回の装置による検出限界の定義として、ピーク電流が確認できることとした．結果からオフセットとして  $5 \text{ nA}$  の電流が流れている．これは装置内の低周波ノイズによるものであると推測される．また、測定波形が揺らいでいることから、ピーク電流値を正確に取得することができないため濃度の定量化が困難である．図 4.18 に増幅型酸化還元センサを用いた結果を示す．図 3 の結果から増幅することによって装置の検出範囲の酸化還元電流値にすることで、オフセットや揺らぎの影響がなく、100 倍程度増幅して測定できることを確認した．図 4.19 にフェリシアン化カリウム  $50 \mu\text{M}$  の時の CV の結果を示す．ピーク電流値が確認できず、CV50W からのノイズの影響により、電極のみでは検出することはできない．図 4.20 に増幅型酸化還元センサの結果を示す．結果から、装置の検出範囲まで増幅することによって、ピーク電流を確認できたことから、装置の検出限界以下の酸化還元電流を増幅し、装置の検出可能な電流範囲まで増幅させることで検出可能であることを確認した．これらの結果から、増幅型酸化還元センサを用いることで、低感度な電気化学装置において化学物質の検出が可能であり、小型計測器による測定が達成できるため、現場測定に適したセンサが実現できると考えられる．

提案した測定システムではバイポーラトランジスタを常に動作させるため、電流源を用いている．そのため、電流源のノイズに酸化還元電流が埋もれてしまうことが推測される．作製した増幅型酸化還元センサの検出限界は電流源のノイズによって決定されることから、オフセットとして用いる電流源にはノイズが小さい電流源を用いる必要がある．低ノイズの電流源についても報告はされているが [4,5], 低ノイズ化と回路規模はトレードオフの関係にある．そのため、低ノイズで回路規模を増大されることのない電流源の設計が今後の課題として挙げられる．



図 4.16: 市販の電気化学装置



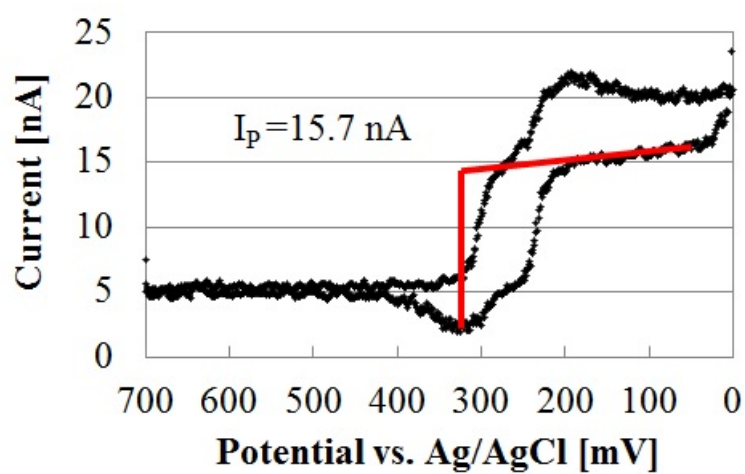


図 4.17: フェリシアン化カリウム  $100 \mu\text{M}$  の測定結果 (電極のみ)

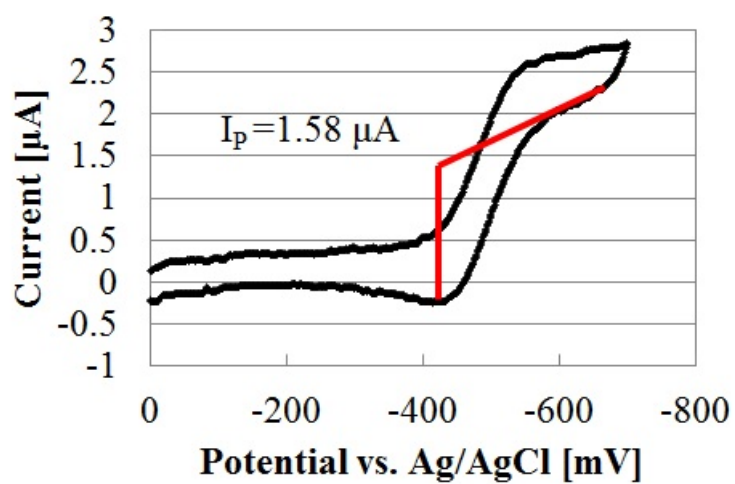


図 4.18: フェリシアン化カリウム  $100 \mu\text{M}$  の測定結果 (増幅型酸化還元センサ)

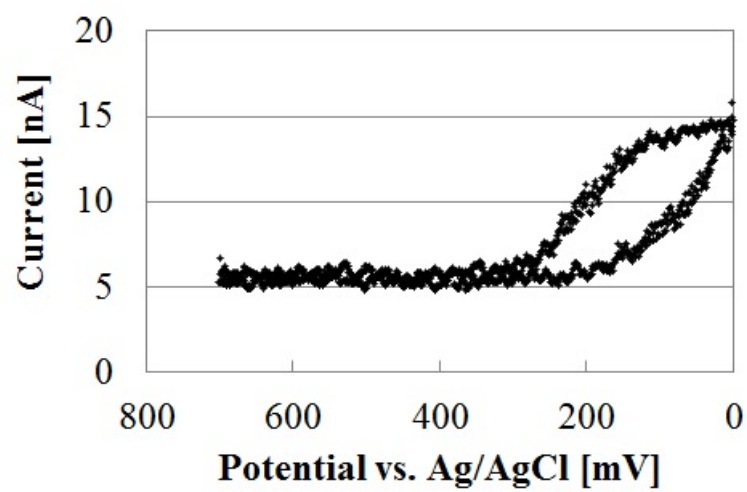


図 4.19: フェリシアン化カリウム 50  $\mu\text{M}$  の測定結果 (電極のみ)

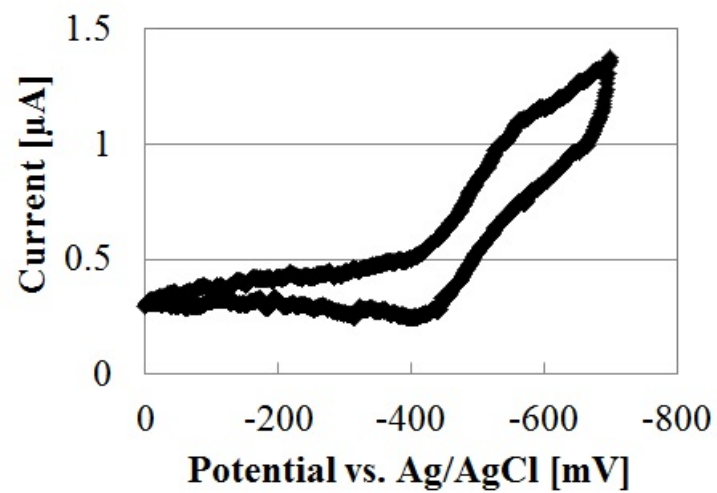


図 4.20: フェリシアン化カリウム 50  $\mu\text{M}$  の測定結果 (増幅型酸化還元センサ)

#### 4.4 増幅型酸化還元センサと MOS によるトランスインピーダンスアンプ (MOS-TIA) 回路における低ノイズの評価

本節では、作製した増幅型酸化還元センサの低ノイズ評価における検出限界の考察を述べる。低周波数の電圧を印加して測定する電気化学測定法において、微小な電流を測定する場合、低周波ノイズ（フリッカーノイズ）の小さい増幅器や増幅回路が求められる [6, 7]。一般的な増幅素子としては電圧制御型である MOSFET と電流制御型であるバイポーラトランジスタがある。これらの増幅素子の低周波ノイズを比較した場合、Si 内部に電流パスがあるバイポーラトランジスタの方が低周波ノイズが小さいことが知られている [8]。そこで、本研究においてバイポーラトランジスタを用いて作製した増幅型酸化還元センサが電気化学測定に適したセンサであるか検証した。検証方法として、MOSFET によって構築した TIA 回路と低周波ノイズを比較した。図 4.21 に、作製した増幅型酸化還元センサを用いたノイズ測定用回路、図 4.22 に MOSFET によって構成された TIA 回路のノイズ測定用回路を示す。今回、作製したセンサでは単素子において増幅が可能のため同様な条件において比較することを考え、単素子の MOSFET を利用した TIA 回路になっている。また、本研究では入力換算電流ノイズによって低周波ノイズの比較を行った。入力換算ノイズとは素子や回路内部で発生したノイズを全て入力で発生したと換算して算出したノイズであり、オペアンプなどのノイズの評価を行う際に用いられる。

入力換算ノイズを算出する場合、他の雑音（熱雑音など）の影響が含まれた値になるためできる限り同じ構成が必要と考え利用する受動素子（抵抗など）をできるだけ同じ構成にした TIA 回路とした。各々の回路の利得を小信号等価回路より算出したものを次式に示す。

$$A_{\Omega \text{ バイポーラトランジスタ based TIA}} = \frac{V_{out}}{I_{in}} = r_{\pi} \pi (R_L // r_o) gm = H_{fe} R_L \quad (4.5)$$

$$A_{\Omega \text{ MOSFET based TIA}} = \frac{V_{out}}{I_{in}} = -R_L \left( \frac{1 - gm R_f}{1 + gm R_L} \right) \quad R_f \gg \frac{1}{gm}, R_d \gg R_L \quad (4.6)$$

$r_{\pi}$  はバイポーラトランジスタの入力抵抗、 $R_L$  は負荷抵抗、 $r_o$  はバイポーラトランジスタの出力抵抗、 $gm$  はトランスコンダクタンス、 $R_f$  は gate-drain 間に挿入する抵抗、 $R_d$  は MOSFET のドレイン抵抗である。入力換算電流ノイズを次式に示す。

$$\overline{I_n^2} = \frac{\overline{V_{no}^2}}{A_{\Omega}^2} \quad (4.7)$$

$I_n$  は入力換算電流ノイズ、 $V_{no}$  は出力ノイズである。出力ノイズを FFT アナライザ（SR770, Stanford research systems）により計測し、利得で割ることによって入力換算電流ノイズを算出した。今回、CV 法と SWV 法を使用しフェリシアン化カリウムを測定する際の周波数範囲である 0.083Hz と 0.75 Hz から 15 Hz においてバイポーラトランジスタを使用する本センサと MOSFET を使用したトランスインピーダンス回路の低周波ノイズ特性を評価した。図 4.23 に、各々の回路による入力換算電流ノイズの周波数依存性を示す。図 4.23 から、MOSFET で構成したトランスインピーダンス回路はバイポーラトランジスタにおける測定回路より低周波ノイズが大きいことが確認できる。

CV 法において 0.083Hz の実効値算出として 0.061Hz から 0.122Hz の実効値を算出した結果、CV 法を使用した場合、増幅型酸化還元センサの入力換算電流ノイズは 19.1 pA<sub>RMS</sub> であり、MOSFET において構成した TIA 回路は 219.8 pA<sub>RMS</sub> であった。この結果は、CV 法を用いた電気化学測定においてバイポーラトランジスタによる増幅は 11.5 倍程度 TIA 回路に比べ最低検出感度向上が期

待できる結果を示している．また，SWV 法を使用 した場合，増幅型酸化還元センサの入力換算電流ノイズは  $46.6 \text{ pA}_{\text{RMS}}$ ，MOSFET において構成した TIA 回路は  $107 \text{ pA}_{\text{RMS}}$  であり，増幅型酸化還元センサによる増幅は 2 倍ほど検出感度向上が期待できる結果が得られた．本研究ではオフセット電流源として半導体デバイスアナライザを用い，低ノイズな電流源により実験を行っている．そのため，増幅型酸化還元センサに挿入する電流源は低ノイズなものになるため実質的な評価は困難である．そのため，実際に電流源を集積化した増幅型酸化還元センサを作製し，チップ単体におけるノイズを評価することが今後の課題として挙げられる．今回は CV 法と SWV 法においてノイズを評価したが，さらに低周波領域の信号を扱う電気化学測定法において更なる検出限界の向上が予想される．作製したセンサにおけるフェリシアン化カリウムの検出限界として先ほどの CV 法のノイズの実効値からの結果を図 4.24 に示す．図 4.24 の検出限界の条件としては，酸化還元電流が充電電流に埋もれず測定ができること，また，実際に測定した酸化還元電流値の値から濃度が比例関係にあることを利用し示したものである．図 4.24 の結果から作用電極サイズが  $100 \mu\text{m}^2$  によるフェリシアン化カリウムの測定において，MOSFET において構成した TIA 回路では  $3 \text{ nM}$  が検出限界に対し，本センサを使用した場合  $30 \text{ pM}$  まで測定できる可能性を示した．今回，フェリシアン化カリウム濃度から検出限界を示したが，増幅型酸化還元センサの検出限界は，電流源を用いて電流を掃引することで実際の検出限界を把握することが可能であり，今後の課題として挙げられる．

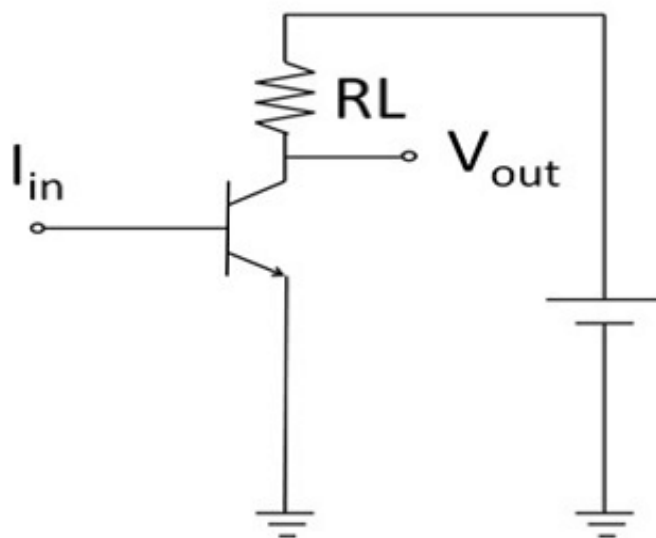


図 4.21: 直接増幅型酸化還元センサを用いたノイズ測定回路

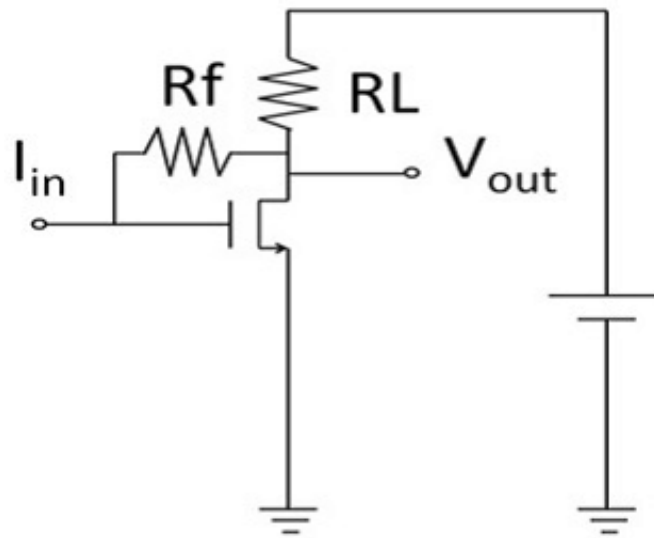


図 4.22: MOSFET によって構成された TIA 回路のノイズ測定用回路

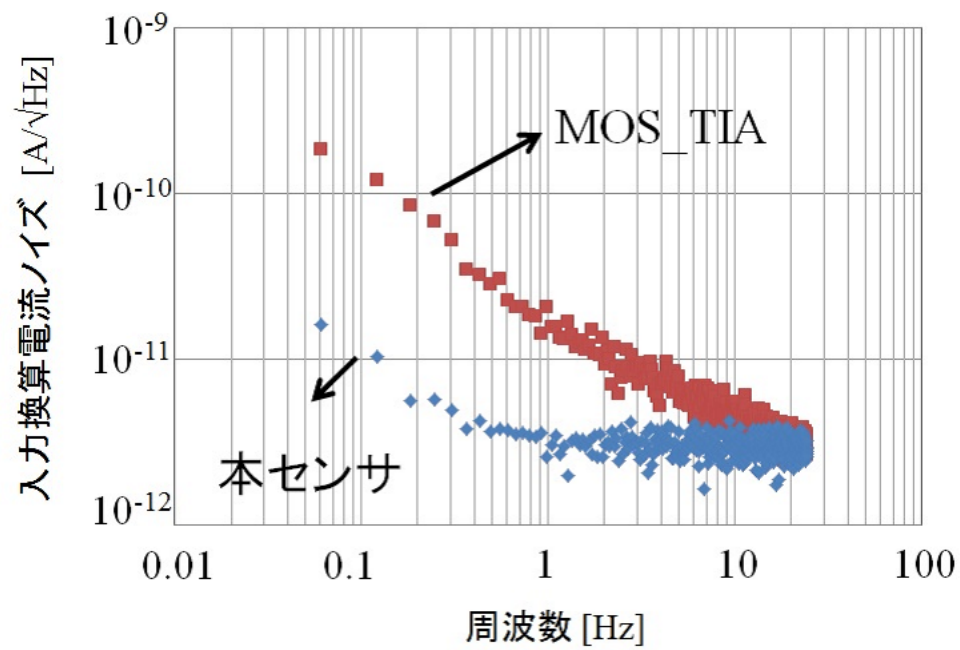


図 4.23: 本センサ と MOSFET 構成の TIA 回路の入力換算電流ノイズ

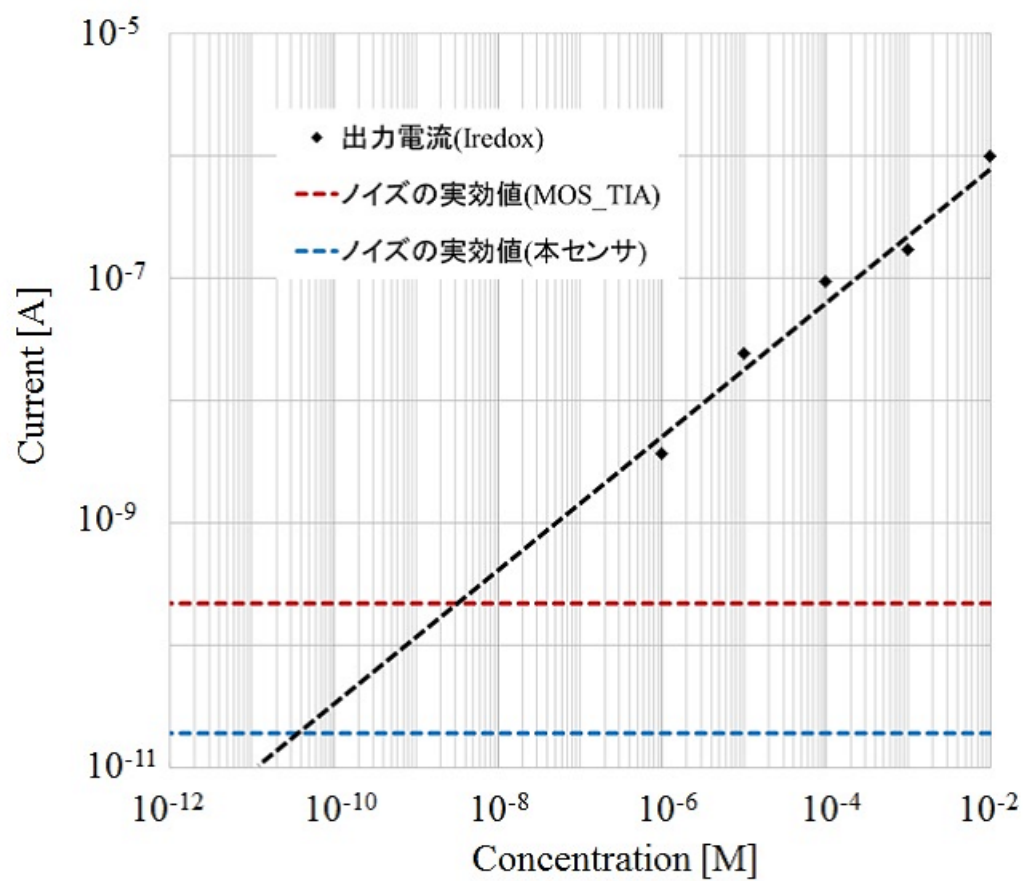


図 4.24: フェリシアン化カリウムの検出限界

## 4.5 まとめ

本章において、増幅型酸化還元センサの検出限界の改善と評価を述べた。作製した増幅型酸化還元センサはバイポーラトランジスタの持つ整流性の観点から酸化電流を増幅し流すことはできない。また、バイポーラトランジスタのベース端子に酸化還元電流が直接流れるためバイポーラトランジスタの電圧-電流特性から増幅度が変化し、単純に定量評価できないという課題があった。さらには、微小電流を測定する際に、バイポーラトランジスタの動作電圧以下の電流はバイポーラトランジスタが動作しなくなり、微小電流測定に不向きであるという問題があった。そこで、今回開発した増幅型酸化還元センサの特徴である単素子において電流の増幅が可能であるという特徴を活かしつつ、これら2つの課題に対し、酸化電流の増幅と微小電流の測定が可能な新たな測定システムを提案した。提案した測定システムはベース端子に酸化還元電流とは別にバイポーラトランジスタを常に動作するためのバイアス源とオフセット電流を差し引くための電流源を挿入することで酸化電流の増幅と微小電流の測定を達成した。

また、低ノイズ評価における検出限界の評価として、増幅型酸化還元センサが低周波測定を行う電気化学測定に適したセンサであるか MOSFET によって構築した TIA 回路と比較を行い低周波ノイズの比較した。その結果、CV 法において 0.083 Hz の実効値算出として 0.061 Hz から 0.122 Hz の実効値の算出した結果、本センサを使用した場合 19.1 pA<sub>RMS</sub>、MOSFET で構成した TIA 回路は 219.8 pA<sub>RMS</sub> と低周波領域の電流を測定する電気化学測定においてバイポーラトランジスタによる増幅は 11.5 倍程度、最低検出感度向上できる結果が得られた。また、SWV 法における周波数範囲が 0.75 Hz から 15 Hz の周波数範囲においてノイズの実効値を算出すると本センサを使用した場合 46.6 pA<sub>RMS</sub>、MOSFET で構成した TIA 回路は 107 pA<sub>RMS</sub> と低周波領域の電流を測定する電気化学測定においてバイポーラトランジスタによる増幅は 2 倍程度、検出感度向上できる結果が得られた。

これらの結果から、CV 法におけるノイズの実効値からフェリシアン化カリウムの検出限界を算出した結果、MOSFET で構成した TIA 回路では 3 nM が検出限界に対し、本センサを使用した場合 30 pM まで測定できる可能性を示した。現場応用を目指したセンサにおいて、本研究のセンサは小型で高感度な化学物質の検出が可能である。次章では、実際のアプリケーション応用としてグルコース応答を計測し、本センサのバイオ計測への応用の検証結果について述べる。

## 参考文献

- [1] S. Takahashi, M. Futagawa, M. Ishida, and K. Sawada, “Directly amplified redox sensor for on-chip chemical analysis,” *Jpn. J. Appl. Phys.*, vol. 53, no. 3, p. 036702-1 -036702-5, 2014.
- [2] Sou Takahashi, Masato Futagawa, Makoto Ishida, and Kazuaki Sawada, IMPROVEMENT OF AN AMPLIFIED REDOX SENSOR FOR HIGH SENSITIVITY CHEMICAL ANALYSIS, The 7th Asia-Pacific Conference on Transducers and Micro/Nano Technologies. (APCOT 2014), 2014.
- [3] ECstat-101, イーシーフロンティア (株) : <http://www.ec-frontier.co.jp/ECstat-101.html>
- [4] D. Talukdar, R. K. Chakraborty, S. Bose, and K. K. Bardhan, “Low noise constant current source for bias dependent noise measurements,” *Rev. Sci. Instrum.*, vol. 82, no. 1, pp. 1-7, 2011.
- [5] T. Costa, M. B. Santos, and T. Costa, “An Ultra-Low Noise Current Source For Magnetoresistive Biosensors Biasing,” *Biomed. Circuits Syst. Conf. (BioCAS)*, IEEE, pp. 73-76, 2012.
- [6] Dongsoo Kim, B. Goldstein, Wei Tang, F. J. Sigworth, and E. Culurciello, “Noise analysis and performance comparison of low current measurement systems for biomedical applications,” *IEEE Trans. Biomed. Circuits Syst.*, vol. 7, no. 1, pp. 52-62, 2013.
- [7] V. Balasubramanian, P. F. Ruedi, Y. Temiz, A. Ferretti, C. Guiducci, and C. C. Enz, “A 0.18  $\mu\text{m}$  biosensor front-end based on 1/f noise, distortion cancelation and chopper stabilization techniques,” *IEEE Trans. Biomed. Circuits Syst.*, vol. 7, no. 5, pp. 660-673, 2013.
- [8] A. Konczakowska and B. M. Wilamowski, “Noise in Semiconductor Devices,” *Ind. Electron. Handbook*, vol. 1 - Fundam. Ind. Electron., 2011.



## 第5章 増幅型酸化還元センサのバイオ計測応用

### 5.1 はじめに

近年、集積化電気化学センサの応用として、医療分野では簡易計測が可能になることによって患者が自ら行える検査である POC (Point of care) 検査が普及しており、迅速性、緊急性のあるもの、自宅でも経過観察可能な計測器への応用が期待されている [1]. 従来の分析手法として分光計測や吸光計測等の光を用いた計測 [3], 高速液体クロマトグラフィー等の分子量差を用いた化学物質の検出 [4], 定量評価が実施されてきた. しかし, 前者は化学物質を測定するために, 大きな光学系が必要であること, 後者は加圧や分子修飾等の前処理が必要であり, 現場計測には不向きであった. 酸化還元センサは, これらの前処理や装置が必要ないため現場計測に適したセンサとして期待されている. [5]. 集積化電気化学センサの生体物質の測定の代表的なものはグルコース, 乳酸 [6], ドーパミン [7,8] といった血中に含まれる様々な物質の計測が挙げられる. 特に, グルコースに関係する代表的な病気として, 糖尿病が挙げられるが, 糖尿病患者はグルコースを定期的に測定する必要があるため市販品も多く発売されている [9]. また, 糖尿病予備軍の人へのケアも重要視されておりグルコース測定の必要性が高まりつつある [10].

本研究では, 本センサのバイオ計測への応用検証として, グルコース検出の実験を行った. そして, 本センサのバイオ計測への応用について考察した.

### 5.2 酵素を用いた酸化還元センサの原理

酸化還元センサは, 測定物質の酸化還元反応の際の電子の授受を測定し, 物質の濃度を測定するセンサであるため, 選択的に物質を測定することは困難である [11]. 特に, 糖尿病患者へのグルコース測定は血液を採取するため, 他の物質が含まれる血中において, 選択的にグルコースのみを測定する必要がある. 酸化還元センサに選択性をもたせるため, よく酵素が用いられる. 酵素は, 生体中において各種化学反応を引き起こす触媒であり, 酵素には, ある特定の物質だけに触媒作用を示す基質特異性を持つことが知られている. この酵素を酸化還元センサに応用することで, 選択性に特化した酸化還元センサを実現することができる. 酵素を利用した酸化還元センサの動作原理をグルコースの測定を例に挙げて述べる. グルコースの検出にはグルコース検出用の酵素であるグルコースオキシダーゼ (GOD) を用いる. 反応として, グルコースは GOD により選択的に酸化され, グルコニック酸を生成し, GOD が反応過程において還元体へと変化する. この還元体に変化した GOD が酸化体に戻す反応として, 液中の酵素を過酸化水素に還元する. この過酸化水素が作用電極上で酸化されるときに電子の授受における電流を測定する [12]. 本研究では, GOD を利用してグルコースを検出した. 次節では, 酵素である GOD の酸化還元センサへの固定化法について述べる.

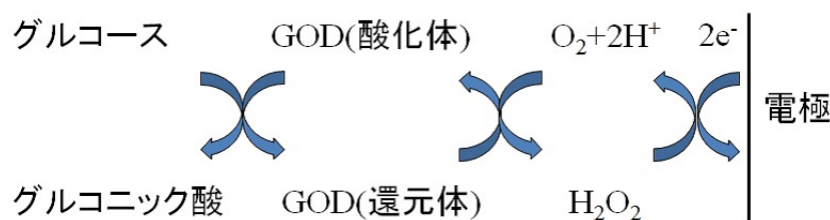


図 5.1: 酵素を用いた酸化還元センサの検出原理

### 5.3 酵素の固定化法

酵素の固定化方法について述べる．酵素の固定化方法は大別すると担体結合法，架橋法，包括法に分類される (図 5.2) [13–15]．

担体結合法は，酵素の共有結合を利用した共有結合法とイオン結合を利用したイオン結合法に分類される．共有結合法はチオール基，カルボキシル基，アミノ基などの官能基と酵素の結合が共有結合することによって，酵素の離脱が少なく固定化できる特徴を有している．しかしながら，酵素の固定化操作が非常に煩雑であるという問題点がある．イオン結合法は共有結合法に比べ結合力は小さくなるが，酵素の固定化操作が簡易的であり，担体の再生が可能である．

架橋法は，2つ以上の官能基を有している化合物である架橋剤を介することによって酵素を結合させる方法である．架橋剤としては，グルタルアルデヒド ( $CHO - CH_2 - CH_2 - CH_2 - CHO$ ) が良く使用され，両端のアルデヒド基と酵素を化学結合させて酵素を固定化する方法である．また，牛血清アルブミン (BSA) とグルタルアルデヒドを用いた架橋法は，埋め込み型のグルコースセンサでは最も一般的な方法として扱われている．この方法は，共有結合やイオン結合法より結合力は劣るが，酵素の固定化走査が容易であることが挙げられる．しかし，グルタルアルデヒドは劇薬なため，使用が困難であることが挙げられる．

包括法は，多糖や合成高分子などで酵素を包括する方法であり，格子型とマイクロカプセル型に分類される．この方法は，担体結合法や架橋法は酵素の結合反応を利用した手法であるのに対し，酵素を酵素反応のみで利用ができるため，酵素の取り扱いが容易である．この方法は酵素を包括した際の酵素の失活に気をつけなければならないが，他の方法に比べ容易に酵素の固定化が可能である．

本研究において，これらの固定化方法を比較・検討した結果，酵素の取り扱いが容易かつ比較的容易に酵素の固定化が可能である包括法で酵素を固定化した．包括法を使用し酵素を固定化した報告されているアルコールセンサ [16, 17] では，酵素を包括するためにはポリイオン複合膜によって酵素を固定化している．ポリイオン複合膜とは，ポリアニオンとポリカチオン溶液が静電引力によって吸着・結合 (複合重合) するときに酵素を間に包括することで電極に酵素を固定化する方法である．ポリイオン複合膜を使用したアルコールセンサでは，架橋法によって固定化されたアルコールセンサと比較した場合，メタノールに対して高い選択比と感度を示した．また，他の研究では数か月の耐久性も報告されており [18–21]，現場測定用のセンサを製作する上で非常に有意的であると考えられる．本研究で利用したポリイオン複合膜による酵素固定化の手順は以下の通りである．

1. ポリカチオンであるポリ (L-リシン臭化水素酸) 25 mM をリン酸バッファ (PB) に溶かした溶液をセンサにドロップキャスト法で塗布

2. グルコースオキシダーゼ 4.0 mg/ml を PB に溶かした溶液をドロップキャスト法によりセンサに塗布
3. ポリアニオンであるポリ (p-スチレンスルホン酸ナトリウム) 25 mM をリン酸バッファ(PB) に溶かした溶液をセンサにドロップキャスト法によりセンサに塗布し室温で 4 時間乾燥

図 5.3 に、ポリイオン複合膜による酵素固定のイメージ図を示す。ポリ (L-リシン臭化水素酸) では、アミノ基部分が  $R-NH_3^+$  となりやすくポリカチオンになり、ポリ (p-スチレンスルホン酸ナトリウム) ではスルホ基部分が  $R-SO_3^-$  の形を取りやすいためポリアニオンになる。さらに、これらの溶液の滴下する液量をコントロールすることで酵素を固定化する領域を調整することができる。本研究ではマイクロピペットを用いて各溶液 10  $\mu$ l ずつを滴下・乾燥させることにより電極上に酵素を固定化した。

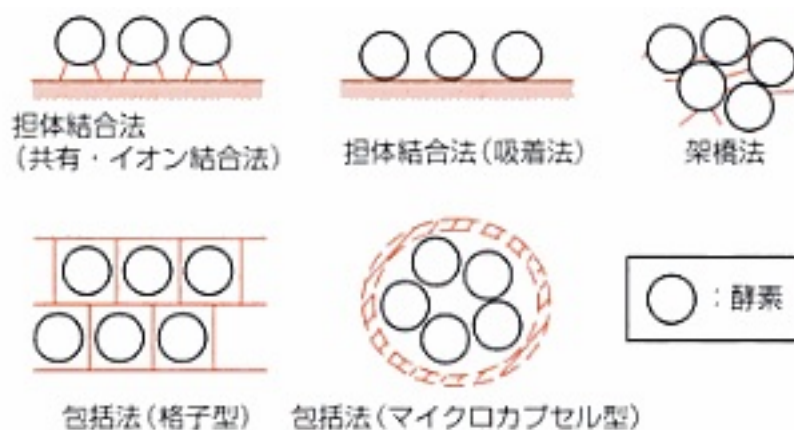


図 5.2: 酵素の固定化方法 [15]

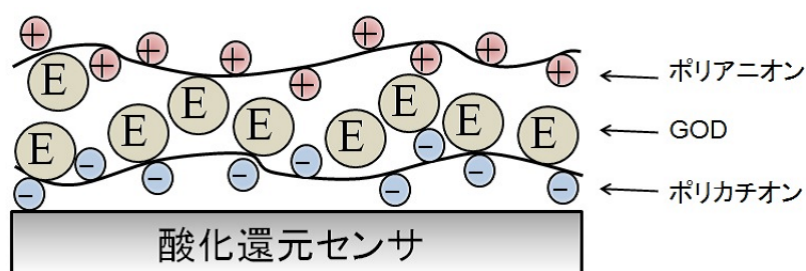


図 5.3: ポリイオン複合膜による酵素固定のイメージ図

## 5.4 グルコースの計測実験

### 5.4.1 電極のみにおけるグルコース応答の確認実験

グルコース応答の確認実験として市販の Pt 棒電極上に各々の溶液を 10  $\mu\text{l}$  ずつ滴下し乾燥させ、グルコースに対する電流応答を検証した。実験はアノード側を正電流として行った。その結果を図 5.4 に示す。図 5.4 の 0.7 V の時の酸化ピーク電流値をプロットしたものを図 5.5 に示す。図 5.5 の結果から、製膜した酵素膜においては 1mM から 10mM までの線形性は確認できたがそれ以上小さい濃度において電流値が飽和した。GOD を用いた他の報告例 [22,23] では 0.02 mM から 10 mM であるのと比較して検出限界はやや劣るが、上限値は、ほぼ同程度の結果が得られた。検出範囲を向上させるためには酵素膜の条件出しが必要であると考えられる。本研究では、本センサのグルコース応答による電流値の増幅の確認を行うため酵素膜の条件は上記の条件のままで行う。図 5.6 に酵素膜を成膜しない場合のグルコースの電流応答の結果を示す。この結果から酵素膜がない場合、グルコース濃度に応じた電流応答が確認できないことから酵素膜を成膜することによってグルコースを測定できていると考えられる。これまで、CV 法を用いてグルコースを検出していたが、CV 法は一回の測定時間が長くリアルタイム測定に不向きであるため、リアルタイム測定に適した電気化学測定法であるクロノアンペロメトリー (CA) 法を用いて実験した。

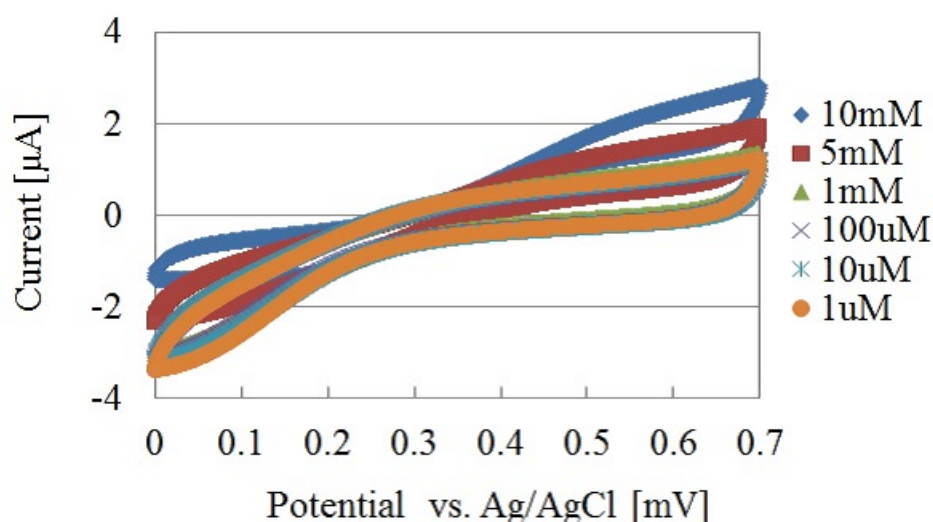


図 5.4: グルコース応答の濃度依存性

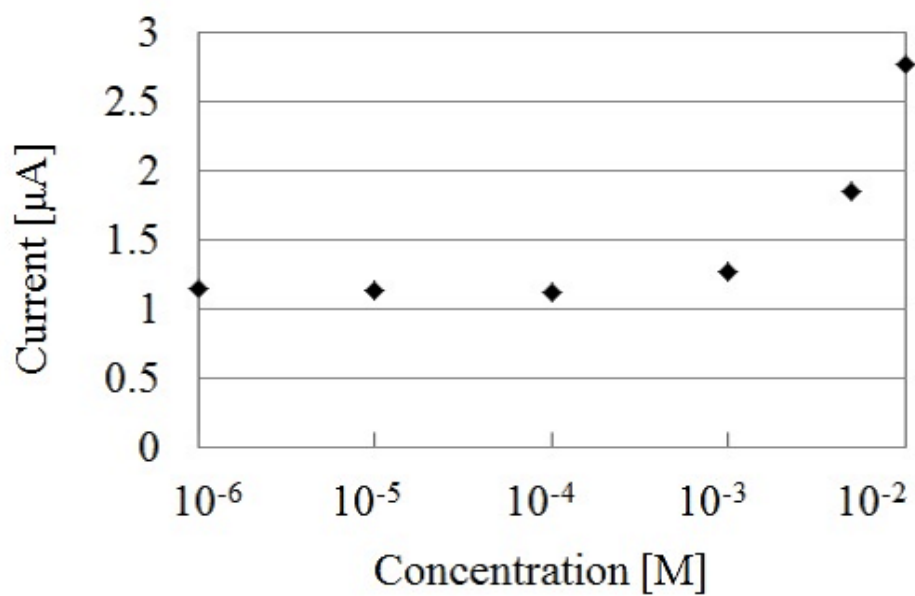


図 5.5: グルコース応答の酸化ピークにおける濃度依存性

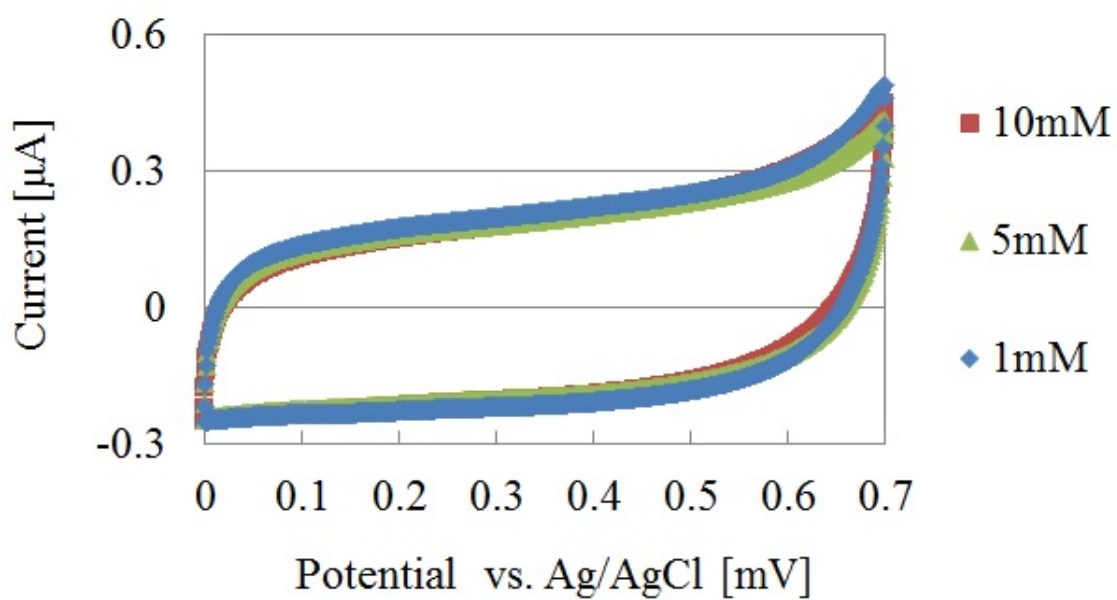


図 5.6: 酵素膜なしグルコース電流応答

#### 5.4.2 増幅型酸化還元センサにおけるグルコース計測

センサに酵素膜を固定化しグルコース応答の実験を行った。図 5.7, 図 5.8 に、酵素膜を固定化したセンサを用いて CA 法によるグルコース応答を測定した結果を示す。グルコース濃度としては 2 mM, 4mM, 6 mM, 8mM, 10mM のグルコース溶液を用いた。実験は電極のみにおけるグルコース応答の確認実験の際と同様に 0.7V に電位を固定して測定した。作製したセンサの方では動作電圧分見かけ上電位がシフトするため、オフセット電流  $1.3 \mu\text{A}$  に対する動作電圧である 0.75 V シフトさせた -0.05 V の電位において固定化した。電極のみと製作したセンサでは波形の形状に異なる点が観察されるがバイポーラトランジスタの増幅度を時間ごとに示した図 5.9 の結果から、溶液の濃度を変更した際の電流値の変動の影響で変更したときに増幅率が下がるため、波形の形状が異なっているものと考えられる。そのため、増幅型酸化還元センサの電流値として増幅度が安定した電流値で評価した。図 5.10, 図 5.11 に、各々の濃度依存性の結果を示す。10 mM は上限検出限界がになっているため電流値が高く出ており、8 mM の時は小さく出ているが、その他の濃度では線形性を確認した。今回、作製したセンサはオフセット電流を挿入して測定しているため、最後に電流を差引している。従って、完全に電流を差引することが困難であるため、絶対値で増幅度を評価することができない。そこで、電流の差分値によって増幅度を評価した。その結果を表 5.1 に示す。表の結果、8 mM の時の増幅度以外は設計した増幅度において増幅されていることを確認した。図 5.9 から電流値は 113 程度に増幅されているが、8 mM の増幅度が変化している理由としては製作したセンサの結果が定常状態に達する前に電流値を取得し、差分値から増幅度を算出しているためと推測される。これらの結果から、本研究で作製したセンサは酵素膜を固定化するようなアプリケーションへ応用できることを示した。また、電流値を増幅して測定できることによって計測器の小型化が容易になり簡便なセンサへの応用が期待される。

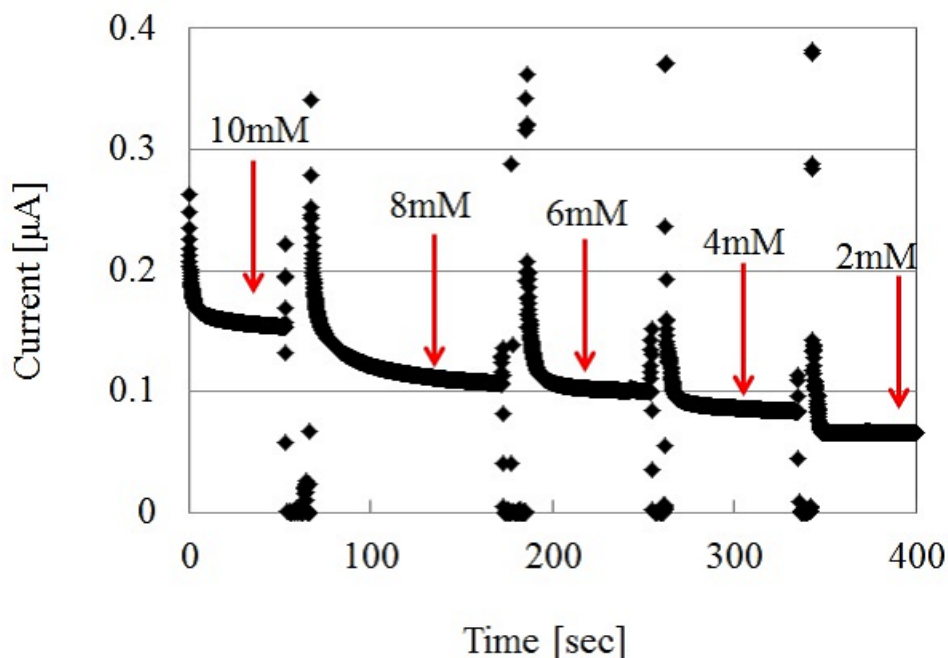


図 5.7: CA 法によるグルコース応答の計測（電極のみ）



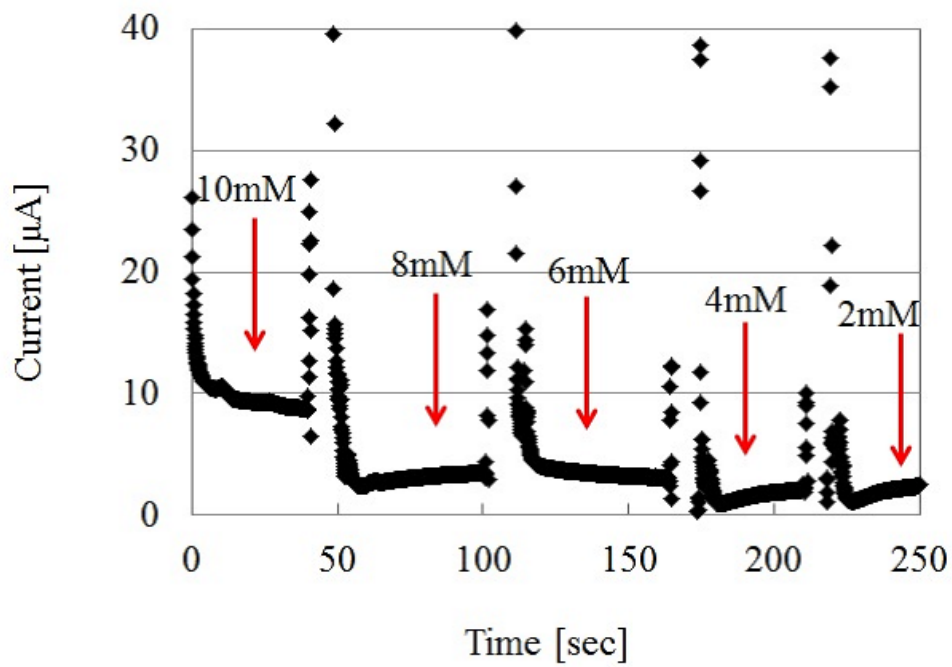


図 5.8: CA 法によるグルコース応答の計測（製作したセンサ）

表 5.1: 電流の差分値による増幅度の評価

電極のみ			バイポーラトランジスタ			
濃 度 [mM]	電 流 値 [nA]	差 分 値 A[nA]	濃 度 [mM]	電 流 値 [μA]	差 分 値 B[μA]	増幅率(差分値 B/差分値 A)
10	153.7	46.6	10	8.79	5.26	112.8
8	107.1	7.4	8	3.54	0.45	61.2
6	99.7	9.6	6	3.08	1.05	109.8
4	90.2	6.3	4	2.03	0.68	108.9
2	83.9		2	1.35		

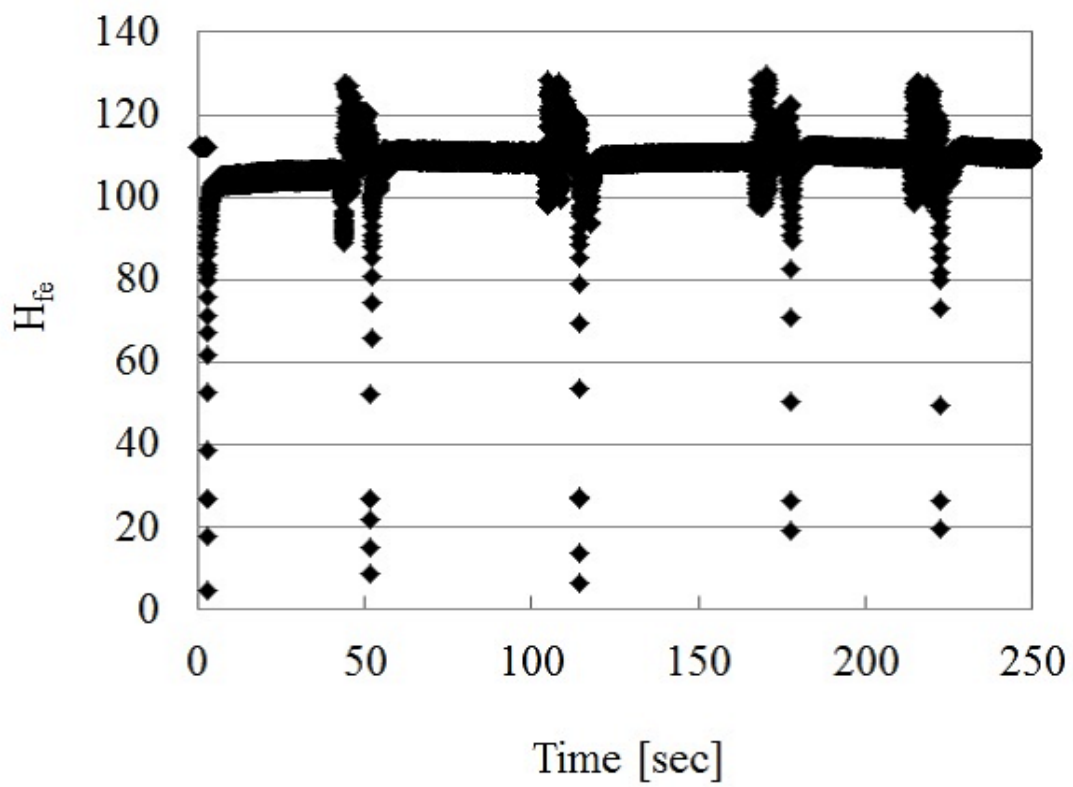


図 5.9: Bipolar Tr の増幅と時間の関係

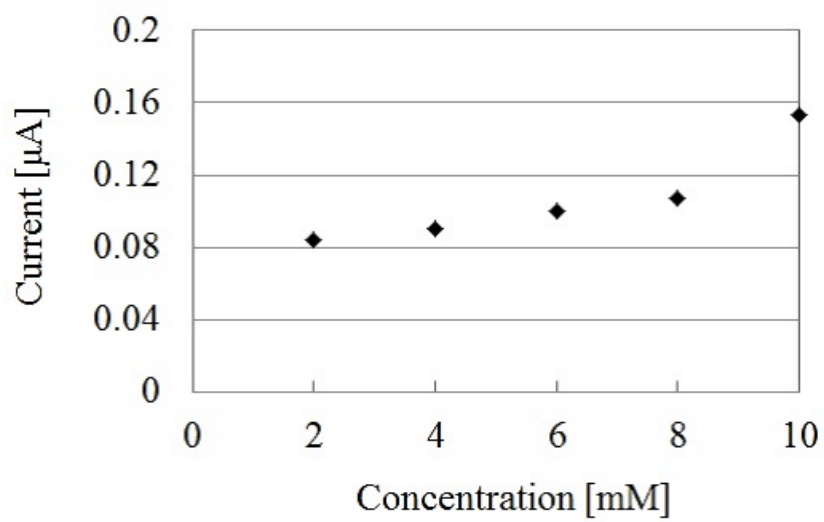


図 5.10: グルコース濃度依存性（電極のみ）



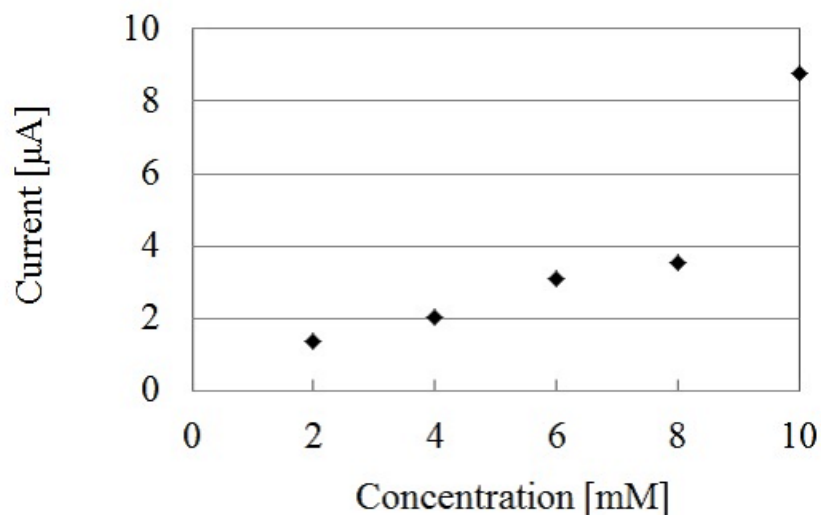


図 5.11: グルコース濃度依存性（製作したセンサ）

## 5.5 まとめ

第5章では、増幅型酸化還元センサがバイオ計測応用可能かどうかについて、実際に作製した増幅型酸化還元センサに酵素膜を固定化しグルコースの計測を行った。酵素膜の固定化法としては、ポリイオン複合膜を用いた酵素の固定化を行い、市販の Pt 棒電極によって、グルコースが計測の確認実験を行った。酵素膜を増幅型酸化還元センサに塗布しグルコースに対する電流値が増幅され、測定できることを確認した。これらの結果から、作製したセンサにおいて酵素膜を固定化するようなアプリケーションへ応用できることを示した。また、電流値を増幅して計測できることによって計測器に精度を求める必要がなくなり、小型化が容易になり簡便なセンサへの応用が期待される。

## 参考文献

- [1] 谷直人, 日本臨床検査自動化学会, POCT が変える医療と臨床検査, じほう出版, 2014
- [2] P. B. Lippa, C. Maller, A. Schlichtiger, and H. Schlebusch, “Point-of-care testing (POCT): Current techniques and future perspectives,” *TrAC Trends Anal. Chem.*, vol. 30, no. 6, pp. 887-898, 2011.
- [3] M. Pleitez, H. Von Lilienfeld-Toal, and W. Mntele, “Infrared spectroscopic analysis of human interstitial fluid in vitro and in vivo using FT-IR spectroscopy and pulsed quantum cascade lasers (QCL): Establishing a new approach to non invasive glucose measurement,” *Spectrochim. Acta - Part A Mol. Biomol. Spectrosc.*, vol. 85, no. 1, pp. 61-65, 2012.
- [4] 村上 和雄, 掛本 道子, 原田 敏勝, 山田 約瑟, “固定化酵素リアクターを用いた高速液体クロマトグラフィーによるグルコースの定量,” *分析化学*, vol. 40, pp. 125-129, 1991.
- [5] G. Hanrahan, D. Patil, and J. Wang, “Electrochemical sensors for environmental monitoring: design, development and applications,” *J. Environ. Monit.*, pp. 657-664, 2004.
- [6] F. Palmisano, M. Quinto, R. Rizzi, and P. G. Zambonin, “Flow injection analysis of -lactate in milk and yoghurt by on-line microdialysis and amperometric detection at a disposable biosensor,” *Analyst*, vol. 126, no. 6, pp. 866-870, 2001.
- [7] K. Yoshimi, Y. Naya, N. Mitani, T. Kato, M. Inoue, S. Natori, T. Takahashi, A. Weitemier, N. Nishikawa, T. McHugh, Y. Einaga, and S. Kitazawa, “Phasic reward responses in the monkey striatum as detected by voltammetry with diamond microelectrodes,” *Neurosci. Res.*, vol. 71, no. 1, pp. 49-62, 2011.
- [8] M. Kagohashi, T. Nakazato, K. Yoshimi, S. Moizumi, N. Hattori, and S. Kitazawa, “Wireless voltammetry recording in unanesthetised behaving rats,” *Neurosci. Res.*, vol. 60, no. 1, pp. 120-127, 2008.
- [9] ACCU-CHEK Aviva, Roche Diagnostics 社 : <https://www.accu-chek.com/us/glucose-meters/aviva.html>
- [10] 厚生労働省, 平成 25 年「国民健康・栄養調査」, 2013
- [11] 大堺利行, 加納健司, 桑畑進, ベーシック電気化学, 化学同人, 2000.
- [12] A. E. G. Cass, G. Davis, G. D. Francis, H. A. O. Hill, W. J. Aston, I. J. Higgins, E. V Plotkin, L. D. L. Scott, and A. P. F. Turner, “Ferrocene-mediated enzyme electrode for amperometric determination of glucose,” *Anal. Chem.*, vol. 56, no. 4, pp. 667-671, 1984.
- [13] 日本化学会, 化学便覧 (応用編) 改訂 3 版, 丸善出版, 1980.

- [14] I. Chibata, "Utilization of Immobilized Enzymes and Immobilized Microbial Cells," *J. Synth. Org. Chem. Japan*, vol. 32, no. 4, pp. 286-297, 1974.
- [15] 青木健次, 微生物学 (基礎生物学テキストシリーズ), 化学同人出版, 2007.
- [16] J. Toida, S. Yabuki, O. Niwa, "Characteristics of alcohol sensor based on enzyme-immobilized polyion complex membrane.," vol. 11, no. 1, pp. 9-11, 2006.
- [17] F. Mizutani, Y. Sato, S. Iijima, "Amperometric Complex Containing Electrode Alcohol Membrane Based on a Polyion Oxidase," vol. 13, no. February, pp. 13-17, 1997.
- [18] F. Mizutani, Y. Sato, Y. Hirata, T. Sawaguchi, and S. Yabuki, "Glucose oxidase/polyion complex-bilayer membrane for elimination of electroactive interferents in amperometric glucose sensor," *Anal. Chim. Acta*, vol. 364, no. 1-3, pp. 173-179, 1998.
- [19] L.-Q. Chen, X.-E. Zhang, W.-H. Xie, Y.-F. Zhou, Z.-P. Zhang, and A. E. G. Cass, "Genetic modification of glucose oxidase for improving performance of an amperometric glucose biosensor.," *Biosens. Bioelectron.*, vol. 17, no. 10, pp. 851-857, 2002.
- [20] A. Harper and M. R. Anderson, "Electrochemical Glucose Sensors Developments Using Electrostatic Assembly and Carbon Nanotubes for Biosensor Construction," *Sensors*, vol. 10, no. 9, pp. 8248-8274, 2010.
- [21] S. Yabuki, M. Iwamoto, and Y. Hirata, "Long-Term Stability of a Cellulose-Based Glucose Oxidase Membrane," *Materials (Basel)*, vol. 7, no. 2, pp. 899-905, 2014.
- [22] D. Pan, J. Chen, L. Nie, W. Tao, and S. Yao, "Amperometric glucose biosensor based on immobilization of glucose oxidase in electropolymerized o-aminophenol film at Prussian blue-modified platinum electrode," *Electrochim. Acta*, vol. 49, no. 5, pp. 795-801, 2004.
- [23] D. Pan, J. Chen, S. Yao, W. Tao, and L. Nie, "An amperometric glucose biosensor based on glucose oxidase immobilized in electropolymerized poly(o-aminophenol) and carbon nanotubes composite film on a gold electrode.," *Anal. Sci.*, vol. 21, no. April, pp. 367-371, 2005.

## 第6章 総括

本研究では、酸化還元センサの作用電極と電流増幅素子である バイポーラトランジスタ を一体化した増幅型酸化還元センサを提案し、低周波ノイズの影響が小さくかつチップ面積を増大させることのない現場計測向けの集積化電気化学センサを実現することを目的とした。先行研究として、MOSFET を増幅回路として用いる酸化還元センサは報告されていたが、電流を計測するためには、MOSFET を複数素子用いたオペアンプを用いて計測する必要があった。従って、回路規模が大きくなり半導体技術を使用するメリットである大量生産することによる低コスト化が困難である問題が考えられた。本研究の特色は、増幅に バイポーラトランジスタ を用いるため、電流信号をそのまま増幅可能な点である。そのため、単素子において増幅でき、さらに酸化還元センサの作用電極直下に増幅素子としての バイポーラトランジスタ を構築することで回路規模の増大がないことが期待できる。

第1章では、半導体技術を用いた集積化電気化学センサの研究動向を説明し、集積化電気化学センサのバイオセンサへの応用、現場計測に向けた集積化電気化学センサの課題を述べた。集積化電気化学センサの研究において、現場計測の実現に際し、小型化、低濃度の化学物質を検出可能で簡易にリアルタイム測定できることが要求される。しかしながら、酸化還元センサは濃度と測定電流（酸化還元電流）の間に比例関係があることが知られており、低濃度の化学物質を計測する場合、非常に小さな電流を測定しなければならない。そのため、高感度な電流計測器が求められるが計測器は高感度になるほど装置の規模が大きくなるため、現場計測を実現する上で大きな課題となる。そのため、本研究では半導体技術を利用し電気化学センサに増幅機能を付与することを提案した。増幅機能を付与することによって、実環境におけるセンサと計測器間の外乱ノイズの影響を小さくすることができ、小型で現場での測定に適したセンサが実現できる。そこで、電気化学センサと低周波におけるノイズ（フリッカーノイズ）が小さいことが知られている バイポーラトランジスタ を一体化した増幅型酸化還元センサを開発した。増幅型酸化還元センサは、チップ面積を増大させることなく、低ノイズで増幅することが可能である。

第2章では、感度、応答性、小型化に優れている酸化還元センサについて述べた。酸化還元センサの測定環境、必要な電極の役割、電気化学測定法について述べた。基本的な電気化学測定法としてサイクリックボルタンメトリー、矩形波ボルタンメトリーを含む様々なボルタンメトリーに関して述べた。酸化還元センサの現場応用への課題として、酸化還元センサは濃度と測定電流（酸化還元電流）の間に比例関係があるため、低濃度の化学物質検出には不向きであることが挙げられる。また、現場での計測において実環境におけるセンサと計測器間の外乱ノイズの影響を考慮する必要がある。従って、低ノイズで高感度な電流計測器が求められるが計測器は低ノイズ・高感度になる程、装置の規模が大きくなるため現場計測を実現する上で重要な課題となる。

第3章では、開発した増幅型酸化還元センサの動作の原理、市販の バイポーラトランジスタ を用いた原理の検証について述べた。市販の バイポーラトランジスタ を用いた原理検証の結果、還元ピーク電流が増幅できることを確認した。しかし、酸化還元電位がシフトしていることが確認された。これは、バイポーラトランジスタ の動作電圧が影響と推測し、電位が動作電圧分シフトしていることが主な原因であると推測された。そこで、バイポーラトランジスタ とダイオード によ

る電位のシフトの影響について検証実験を行い、バイポーラトランジスタとダイオードの動作電圧の影響であることを明らかにした。次に、増幅型酸化還元センサの設計・作製について述べた。増幅型酸化還元センサの増幅度やエミッタ濃度、ベース濃度、コレクタ濃度を設計し、T-CADを使用したシミュレーションの結果から本研究で提案したデバイスを本学の固体機能デバイス施設において作製した。作製したセンサでは、標準試薬であるフェリシアン化カリウムを用いた実験において、還元電流が75倍～110倍の増幅結果が得られ、提案したセンサの実現可能性が実証された。また、作製した増幅型酸化還元センサにおいて酸化電流が増幅できないこと、さらに、微小電流を測定する際、バイポーラトランジスタの動作電圧以下の電流はバイポーラトランジスタが動作しなくなり、微小電流測定に不向きである問題があった。

第4章では、作製した増幅型酸化還元センサの問題点から新たな測定システムを提案した。提案したシステムでは、既存の測定システムに電流源を2つ付け加えた非常にシンプルな構造であり、バイポーラトランジスタ単素子において酸化還元電流を増幅することができることを示した。また、溶液-電極界面における電気2重層からの充電電流により、ピーク電流値が埋もれてするという現象が確認された。そこで、充電電流の影響が少なく酸化還元電流を測定することが可能な矩形波ボルタンメトリーを用いることで、本センサにおいて1 $\mu$ Mのフェリシアン化カリウムを測定可能であることを示した。半導体技術を用いることでこの電流源も集積化可能であるため、測定系の規模を増大させることなく感度の向上が期待できることを示した。

低周波の電圧を印加し測定することが多い電気化学センサにおいて、低周波におけるノイズを増幅型酸化還元センサとMOSFET単素子によって構成されたTIA回路において低ノイズの評価と検出限界の検証を行った。低周波ノイズの評価方法として、本研究では入力換算電流ノイズにおいて評価を行った。CV法において0.083 Hzの実効値算出として0.061 Hzから0.122 Hzの実効値算出を行った結果、増幅型酸化還元センサの低周波ノイズ電流は19.1 pA<sub>RMS</sub>であり、MOSFETにおいて構成したTIA回路は219.8 pA<sub>RMS</sub>であった。これらの結果から、CV法を用いた電気化学測定においてバイポーラトランジスタによる増幅は11.5倍ほどTIA回路に比べ最低検出感度向上が期待できる結果が得られた。また、SWV法を使用した場合、増幅型酸化還元センサの低周波ノイズは46.6 pA<sub>RMS</sub>、MOSFETにおいて構成したTIA回路は107 pA<sub>RMS</sub>であり、バイポーラトランジスタによる増幅は2倍ほど検出感度向上が期待できる結果が得られた。次に、CV法におけるノイズの実効値からフェリシアン化カリウムの検出限界を算出した。その結果、フェリシアン化カリウムの測定において、TIA回路では3 nMが検出限界であるのに対し、本センサを使用した場合30 pMまで測定できる可能性を示した。

第5章では、増幅型酸化還元センサのバイオ計測応用に関して述べた。本研究では、グルコース測定の必要性を述べた後、酵素を用いた酸化還元センサの原理を述べた。本研究では、酵素の固定化方法として酵素の取り扱いが容易である包括法の中のポリイオン複合膜を使用して酵素を固定化し、増幅型酸化還元センサにおいてグルコースを高感度に測定できる可能性を示した。

現場計測用途に適した小型な集積化電気化学センサを実現することで、環境分野においては工場から排出される微量の重金属の測定、農業分野では植物の栄養分の分析、医療分野では介護用途での非侵襲型生体情報モニタリングなど幅広い現場計測への応用に貢献できると考えられる。さらに、バイポーラトランジスタにより測定電流を増幅できるため増幅度を100倍とするとセンシングエリアの面積を1/100にすることが可能である。従って、微小領域の作用電極からの電流の取得が可能になり、アレイ化することで、これまで実現できなかった空間分解能の高いバイオイメージングが可能となり、細胞の新たな生理現象の解明に貢献できると考えられる。今後の課題として、ノイズの少ない電流源を集積化した増幅型還元センサを作製し、実際に河川や工場排水などの現場において化学分析を行い、現場計測に適したセンサであるか評価を行うことが課題

として挙げられる.

# 謝辞

本研究の機会を与えて頂くとともに、研究の遂行ならびに本論文の執筆にあたって終始適切なお指導と、御助言を賜りました豊橋技術科学大学工学部 教授・工学博士 澤田和明先生に謹んで感謝の意と敬意を表します。

本研究の機会を与えて頂くとともに、研究の遂行ならびに本論文の執筆にあたって終始適切なお指導と、御助言を賜りました豊橋技術科学大学工学部 教授・工学博士 石田誠先生に謹んで感謝の意と敬意を表します。

本研究を遂行するにあたり、副査として御指導、御助言を賜りました豊橋技術科学大学教授・工学博士 櫻井庸司先生、豊橋技術科学大学教授・工学博士 石田誠先生にこの場を借りて心から感謝の意を表します。

本研究の3章の研究を遂行するにあたり、有益なご討論ご助言をいただいた静岡大学 准教授・博士（工学） 二川雅登先生にこの場を借りて心から感謝の意を表します。

本研究の4章の研究を遂行するにあたり、有益なご討論ご助言をいただいた豊橋技術科学大学 助教・博士（工学） 秋田一平先生にこの場を借りて心から感謝の意を表します。

本研究を遂行するにあたり、御指導、御助言を賜りました豊橋技術科学大学 特任教授・博士（理学） 石井仁先生、豊橋技術科学大学 准教授・博士（工学） 河野剛士先生、豊橋技術科学大学 准教授・博士（工学） 村上裕二先生、豊橋技術科学大学 講師・博士（工学） 高橋一浩先生 豊橋技術科学大学 助教・博士（工学） 赤井大輔先生、豊橋技術科学大学助教・博士（工学） 岩田達哉先生にこの場を借りて心から感謝の意を表します。

本研究を遂行するに当たり、常に有益な御指導、御助言を賜りました特命技術職員 足木光昭氏、研究員 高瀬博行氏、技術専門職員 飛沢健氏にこの場を借りて厚く感謝の意を表します。

様々な御便宜ならびに有益な御教示を頂きました豊橋技術科学大学 研究員 太斎文博氏に深く感謝いたします。豊橋技術科学大学 秘書 豊田留美子氏、門井久美氏、豊橋技術科学大学 研究補助員 堀尾智子氏 奥田美幸氏 土門瞳氏の皆様に深く感謝の意を表します。

また、在学中様々な御便宜ならびに有益な御教示を頂きましたユニテック 河野顕輝氏、デンソー 中澤寛一氏、凸版印刷 藤城彬史氏にこの場を借りて心から感謝の意を表します。

また、研究遂行にあたりご支援ご協力をいただきながら、ここにお名前を記すことができなかった多くの方々に感謝の意を表します。

最後に、これまで筆者が思う道を進むことを温かく見守り、辛抱強く支援してくださった両親に深謝の意を表して謝辞とする。

平 27 年  
高橋 聡

# 業績一覧

## 学術論文（査読あり）

- [1] Sou Takahashi, Masato Futagawa, Makoto Ishida, and Kazuaki Sawada, Directly amplified redox sensor for on-chip chemical analysis, Jpn. J. Appl. Phys, Volume 53, p036702-1 - p036702-5, February 2014 (5 pages)
- [2] Sou Takahashi, Masato Futagawa, Makoto Ishida, and Kazuaki Sawada, Amplified Redox Sensor for Highly Sensitive Chemical Analysis, IEICE TRANS. ELECTRON. (Oct. 2015 Accepted)
- [3] B. Lim, M. Futagawa, S. Takahashi, F. Dasai, M. Ishida, and K. Sawada, “Integrated Square Wave Voltammetry Redox Sensor System for Electrochemical Analysis,” Jpn. J. Appl. Phys., vol. 52, no. November, p. 116502, 2013.
- [4] B. Lim, M. Futagawa, S. Takahashi, F. Dasai, M. Ishida, and K. Sawada, “Integrated  $8 \times 8$  array redox sensor system employing on-chip square wave voltammetric circuit for multi point and high-speed detection,” Jpn. J. Appl. Phys., vol. 53, no. 4, p. 046502, 2014.

## 国際学会（査読あり）

- [1] Sou Takahashi, Masato Futagawa, Makoto Ishida, and Kazuaki Sawada, Proposition and fabrication of Amplified Redox Sensor (ARS) for high sensitive chemical analysis, The 17th International Conference on Solid-State Sensors, Actuators and Microsystems(Transducers 2013), MP3.058, p.242-245, Barcelona, Spain (2013) (4 pages)
- [2] Sou Takahashi, Masato Futagawa, Makoto Ishida, and Kazuaki Sawada, IMPROVEMENT OF AN AMPLIFIED REDOX SENSOR FOR HIGH SENSITIVITY CHEMICAL ANALYSIS, The 7th Asia-Pacific Conference on Transducers and Micro/Nano Technologies. (APCOT 2014), Korea (2014) (2 pages)
- [3] B. Lim, M. Futagawa, S. Takahashi, F. Dasai, M. Ishida, K. Sawada, “Fabrication of an Integrated Square Wave Voltammetry (SWV)-Redox Sensor,” Solid State Devices and Materials (SSDM2013), pp.356-357, 2013.
- [4] B. Lim, M. Futagawa, S. Takahashi, F. Dasai, M. Ishida, and K. Sawada, “On-chip square wave voltammetric pulse generator for redox measurement employing array structure,” Biomedical Circuits and Systems Conference (BioCAS), IEEE, pp.113 - 116, 2014.

## 国内学会

[口頭・査読なし]

- [1] ○高橋聡, 二川雅登, 石田誠, 澤田和明, “バイポーラトランジスタと作用電極を一体化した直接増幅型レドックスセンサの製作” 第74回応用物理学会秋季学術講演会, 2013年9月
- [2] ○高橋聡, 二川雅登, 石田誠, 澤田和明, “高感度化学分析のための増幅型増幅型レドックスセンサの製作” 第30回「センサ・マイクロマシンと応用システム」シンポジウム, 2013年11月
- [3] ○高橋聡, 二川雅登, 石田誠, 澤田和明, “電流増幅機能をもった酸化還元センサの開発”, 電子情報通信学会, 2014年7月
- [4] ○高橋聡, 二川雅登, 石田誠, 澤田和明, “直接増幅型レドックスセンサの検出限界向上のための増幅率の安定化” 第75回応用物理学会秋季学術講演会, 2014年9月



[5] ○高橋聡, 二川雅登, 秋田一平, 高橋一浩, 岩田達哉, 石田誠, 澤田和明, ” 低周波ノイズ特性に優れた直接増幅型酸化還元センサの開発 ” 第 76 回応用物理学会秋季学術講演会, 2015 年 9 月

[ポスター・査読なし]

[1] ○高橋聡, 二川雅登, 秋田一平, 高橋一浩, 岩田達哉, 石田誠, 澤田和明, ” 直接増幅型酸化還元センサの検出限界の改善ならびに低周波ノイズの評価 ” 第 32 回「センサ・マイクロマシンと応用システム」シンポジウム, 2015 年 10 月

[特許]

名称：酸化還元電位の測定装置

発明者：二川雅登, 澤田和明, 高橋聡

番号：特願 2012-177909

出願日：平成 24 年 8 月 10 日

## 付 録 A 電流増幅型高感度酸化還元センサプロセスチャート

	工程名	工程	時間
1	初期洗浄	希フッ酸 (DHF) (HF : H <sub>2</sub> O=1 : 50)	目視 (15s)
		DIW	10min
		王水 boil 300 °C (HNO <sub>3</sub> : HCl =1 : 3)	10min
		DIW	10min
		アンモニア過水 (APM)boil 120 °C (NH <sub>4</sub> OH : H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> : H <sub>2</sub> O=1 : 1 : 6)	10min
		DIW	10min
		塩酸過水 (HPM)boil 120 °C (HCL : H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> : H <sub>2</sub> O=1 : 1 : 6)	10min
		DIW	10min
		希フッ酸 (DHF) (HF : H <sub>2</sub> O=1 : 50)	目視 (15s)
		DIW	10min
		スピンド乾燥	
2	初期酸化	OX1 : 1000 °C	
		Dry O <sub>2</sub> 250L/hr	60min
		Anneal N <sub>2</sub> 250L/hr	10min
3	膜厚測定	SiO on Si	
4	フォトリソ (Mark)	MASK GP4 (EB:ポジ)	
		レジスト塗布 (・)	
		露光 (i 線ステッパー)	
		現像 (・)	
5	SiO <sub>2</sub> /Si エッチング	Si 系 RIE	8.5min
		SF <sub>6</sub> =10sccm	
		press.=1.0Pa	
		RF Power=100W	
6	膜厚測定	SiO on Si	
7	レジスト除去	O <sub>2</sub> アッシャー	10min
		SPM boil 120 °C	10min

		H2SO4:H2O2=3:1	
		DIW	10min
8	フォトリソ (n-well)	MASK GP8 (EB:ポジ)	
		レジスト塗布 (・)	
		露光 (i 線ステッパー)	
		現像 (・)	
9	UV 照射		30min
10	イオン注入 (n-well 形成)	P	22sec/枚
		加速電圧 : 60keV	
		ドーズ量 : 5e12 cm-2	
11	レジスト除去	O2 アッシャー	10min
		SPM boil 120 °C H2SO4:H2O2=3:1	10min
		DIW	10min
12	Drivein 前洗浄	アンモニア過水 (APM)boil 120 °C (NH4OH : H2O2 : H2O=1 : 1 : 6)	10min
		DIW	10min
		塩酸過水 (HPM)boil 120 °C (HCL : H2O2 : H2O=1 : 1 : 6)	10min
		DIW	10min
		スピン乾燥	
13	Drivein	OX6 : 1150 °C	
		Anneal N2 250L/hr	8hour
14	抵抗率測定	B H F (※ Ref のみ)	
		DIW	
		$\rho_s$ 測定	
15	LP-CVD 前洗浄	アンモニア過水 (APM)boil 120 °C (NH4OH : H2O2 : H2O=1 : 1 : 6)	10min
		DIW	10min
		塩酸過水 (HPM)boil 120 °C (HCL : H2O2 : H2O=1 : 1 : 6)	10min
		DIW	10min
		スピン乾燥	
16	Si3N4 LP-CVD	808 °C	37min
		SiH2Cl2 : NH3=200sccm : 550sccm	
		成長圧力 : 0.25Torr	
	膜厚測定	Si3N4 on SiO	
17	フォトリソ (Si3N4)	MASK Active (EB:ネガ)	
		レジスト塗布 (・)	

		露光 (i 線ステッパー)	
		現像 (・)	
18	窒化膜エッチング	Si 系 RIE	
		CF4 : O2=20 : 5sccm	
		Press.=5.0Pa	
		RF Power=100W	
19	膜厚測定	本体 Wf	
20	レジスト除去	O2 アッシャー	10min
		SPM boil 120 °C H2SO4:H2O2=3:1	10min
		DIW	10min
21	フォトリソ (CH-Stoper)	MASK GP6 (EB:ネガ)	
		レジスト塗布 (・)	
		露光 (i 線ステッパー)	
		現像 (・)	
22	UV 照射		30min
23	イオン注入 (CH-stoper 形成)	bf2	
		加速電圧 : 60keV	
		ドーズ量 : 3.00E+13 cm-2	
24	レジスト除去	O2 アッシャー	10min
		SPM boil 120 °C H2SO4:H2O2=3:1	10min
		DIW	10min
25	酸化前洗浄 (LOCOS 酸化)	アンモニア過水 (APM)boil 120 °C (NH4OH : H2O2 : H2O=1 : 1 : 6)	10min
		DIW	10min
		塩酸過水 (HPM)boil 120 °C (HCL : H2O2 : H2O=1 : 1 : 6)	10min
		DIW	10min
		希フッ酸 (DHF) (HF : H2O=1 : 50)	目視 (15s)
		DIW	10min
		スピン乾燥	
26	LOCOS 酸化	OX1 1000 °C	
		Wet O2 : H2=250L/hr : 250L/hr	210min
		Dry O2 250L/hr	10min
		Anneal N2 250L/hr	10min
27	膜厚測定	本体 Wf Ref	
28	SiO2、Si3N4 除去	BHF	

		DIW	10min
		熱リン酸 (H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> ) : 160 °C	
		温純水	20min
		DIW	10min
29	膜厚測定	本体 Wf Ref	
30	フォトリソ (p-well)	MASK P-Well (EB:ポジ)	
		レジスト塗布 (・)	
		露光 (i 線ステッパー)	
		現像 (・)	
31	UV 照射		30min
32	イオン注入 (p-well 形成)	B	
		加速電圧 : 60keV	
		ドーズ量 : 3e13cm-2	
33	レジスト除去	O <sub>2</sub> アッシャー	40min
		SPM boil 120 °C	10min
		H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> :H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> =3:1	
		DIW	10min
34	Drivein 前洗浄	アンモニア過水 (APM)boil 120 °C (NH <sub>4</sub> OH : H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> : H <sub>2</sub> O=1 : 1 : 6)	10min
		DIW	10min
		塩酸過水 (HPM)boil 120 °C (HCL : H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> : H <sub>2</sub> O=1 : 1 : 6)	10min
		DIW	10min
		スピン乾燥	
35	Drivein	OX5 : 1000 °C	90min
		Anneal N <sub>2</sub> 250L/hr	10min
36	抵抗率測定	B H F (※ Ref のみ)	
		DIW	
		$\rho_s$ 測定	
37	フォトリソ (n-mos 閾値調整用)	MASK (EB: )	
		レジスト塗布 (・)	
		露光 (i 線ステッパー)	
		現像 (・)	
38	イオン注入 (p-well 形成)	B	
		加速電圧 : keV	
		ドーズ量 : cm-2	
39	レジスト除去	O <sub>2</sub> アッシャー	40min

		SPM boil 120 °C H2SO4:H2O2=3:1	10min
		DIW	10min
40	フォトリソ (p-mos 閾値調整用)	MASK (EB: )	
		レジスト塗布 (・)	
		露光 (i 線ステッパー)	
		現像 (・)	
41	イオン注入 (p-well 形成)	B	
		加速電圧: keV	
		ドーズ量: cm-2	
42	レジスト除去	O2 アッシャー	40min
		SPM boil 120 °C H2SO4:H2O2=3:1	10min
		DIW	10min
43	SiO2 エッチング	BHF	
		DIW	10min
44	膜厚測定	本体W f	
		Ref	
45	酸化前洗浄 (ゲート酸化)	アンモニア過水 (APM)boil 120 °C (NH4OH : H2O2 : H2O=1 : 1 : 6)	10min
		DIW	10min
		塩酸過水 (HPM)boil 120 °C (HCL : H2O2 : H2O=1 : 1 : 6)	10min
		DIW	10min
		希フッ酸 (DHF) (HF : H2O=1 : 50)	目視 (15s)
		DIW	10min
		スピン乾燥	
46	ゲート酸化	OX1 : 1000 °C	
		Dry O2 250L/hr	60min
		Anneal N2 250L/hr	10min
47	膜厚測定	本体W f	
		Ref	
48	フォトリソ (E-開口)	MASK GP7 (EB:ポジ)	
		レジスト塗布 (・)	
		露光 (i 線ステッパー)	
		現像 (・)	
49	SiO2 エッチング	BHF	
		DIW	10min
50	膜厚測定	本体W f	
		Ref	
51	レジスト除去	O2 アッシャー	40min
		SPM boil 120 °C	10min

		H2SO4:H2O2=3:1	
		DIW	10min
52	LP-CVD 前洗浄	アンモニア過水 (APM)boil 120 °C (NH4OH : H2O2 : H2O=1 : 1 : 6)	10min
		DIW	10min
		塩酸過水 (HPM)boil 120 °C (HCL : H2O2 : H2O=1 : 1 : 6)	10min
		DIW	10min
		スピン乾燥	
53	Poly-Si LP-CVD	LP-CVD 623 °C	
		成長圧力 : 0.5Torr	
		SiH4 /N2(20 %希釈)=200sccm	
54	膜厚測定	本体W f	
		Ref	
55	酸化前洗浄	アンモニア過水 (APM)boil 120 °C (NH4OH : H2O2 : H2O=1 : 1 : 6)	10min
		DIW	10min
		塩酸過水 (HPM)boil 120 °C (HCL : H2O2 : H2O=1 : 1 : 6)	10min
		DIW	10min
		希フッ酸 (DHF) (HF : H2O=1 : 50)	目視 (15s)
		DIW	10min
		スピン乾燥	
56	Dry 酸化	OX1 : 1000 °C	
		Dry O2 250L/hr	120min
		Anneal N2 250L/hr	10min
57	膜厚測定	本体W f	
		Ref	
58	フォトリソ ( P o l y - S i 電極化 )	MASK GP1 (EB:ポジ)	
		レジスト塗布 (・)	
		露光 (i 線ステッパー)	
		現像 (・)	
59	UV 照射		30min
60	イオン注入 P o l y - S i 電極化	P	
	レジスト除去	O2 アッシャー	40min
		SPM boil 120 °C H2SO4:H2O2=3:1	10min

		DIW	10min
61	フォトリソ (SiO <sub>2</sub> & Poly)	MASK POLY (EB:ネガ) レジスト塗布 (・) 露光 (i 線ステッパー) 現像 (・)	
62	SiO <sub>2</sub> エッチング	Si 系 RIE SF <sub>6</sub> =10sccm press.=1.0Pa RF Power=100W	
63	膜厚測定	本体W f Ref	
64	抵抗率測定	B H F (※ Ref のみ) DIW $\rho_s$ 測定	
65	Poly-Si エッチング	Si 系 RIE SF <sub>6</sub> =10sccm Press.=1.0Pa RF Power=100W	
66	膜厚測定	本体W f Ref	
67	レジスト除去	O <sub>2</sub> アッシャー SPM boil 120 °C H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> :H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> =3:1 DIW	40min 10min 10min
68	フォトリソ (As)	MASK sub-con (EB:ポジ) レジスト塗布 (・) 露光 (i 線ステッパー) 現像 (・)	
69	SiO <sub>2</sub> エッチング	Si 系 RIE SF <sub>6</sub> =10sccm press.=1.0Pa RF Power=100W	
70	UV 照射		30min
71	膜厚測定	本体W f Ref	
72	イオン注入 (エミッタ & コンタクトインプラ)	As 加速電圧 60keV ドーズ量 : 3e15cm <sup>-2</sup>	
73	レジスト除去	O <sub>2</sub> アッシャー SPM boil 120 °C H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> :H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> =3:1	40min 10min



		DIW	10min
74	フォトリソ (B)	MASK well-con (EB:ポジ)	
		レジスト塗布 (・)	
		露光 (i 線ステッパー)	
		現像 (・)	
75	UV 照射		30min
76	イオン注入 (ベース & コンタクトインプラ)	B	
		加速電圧 60keV	
		ドーズ量 : 3e14cm-2	
	SiO2 エッチング	Si 系 RIE	
		SF6=10sccm	
		press.=1.0Pa	
		RF Power=100W	
77	レジスト除去	O2 アッシャー	40min
		SPM boil 120 °C H2SO4:H2O2=3:1	10min
		DIW	10min
78	LP-CVD 前洗浄	アンモニア過水 (APM)boil 120 °C (NH4OH : H2O2 : H2O=1 : 1 : 6)	10min
		DIW	10min
		塩酸過水 (HPM)boil 120 °C (HCL : H2O2 : H2O=1 : 1 : 6)	10min
		DIW	10min
		スピン乾燥	
79	TEOS LP-CVD	708 °C	
		TEOS=30sccm	
		O2=0.3L/min	
		成長圧力 : 0.3Torr	
80	膜厚測定	本体W f	
		Ref	
81	フォトリソ (TEG 開口)	MASK GP5 (EB:ポジ)	
		レジスト塗布 (・)	
		露光 (i 線ステッパー)	
		現像 (・)	
82	Wet エッチング前 O2 アッシャー	東京応化 O2 アッシャー	90sec
83	エッチング (TEOSandSi)	BHF	10min
		DIW	
84	膜厚測定	本体W f	

		Ref	
85	レジスト除去	O2 アッシャー	40min
		SPM boil 120 °C H2SO4:H2O2=3:1	10min
		DIW	10min
86	デンシファイアニール前洗浄	アンモニア過水 (APM)boil 120 °C (NH4OH : H2O2 : H2O=1 : 1 : 6)	10min
		DIW	10min
		塩酸過水 (HPM)boil 120 °C (HCL : H2O2 : H2O=1 : 1 : 6)	10min
		DIW	10min
		スピン乾燥	
87	デンシファイアニール	OX4 : 1000 °C	
		Anneal N2 250L/hr	20min
88	抵抗率測定	B H F (※ Ref のみ)	
		DIW	
		$\rho_s$ 測定	
89	TEG 特性チェック	hfe 合わせ	
90	フォトリソ (コンタクトホール)	MASK contact (EB:ポジ)	
		レジスト塗布 (・)	
		露光 (i 線ステッパー)	
		現像 (・)	
91	Wet エッチング前 O2 アッシャー	東京応化 O2 アッシャー	90sec
92	コンタクトホールエッチング (TEOS)	BHF	
		DIW	10min
93	コンタクトホール エッチング (SiO2)	Dry	2min
		DIW	10min
94	ベーク		
95	エッチング (SiO2)	Dry	2min
		DIW	10min
96	膜厚測定	本体 W f	
		Ref	
97	レジスト除去	SPM boil 120 °C H2SO4:H2O2=3:1	10min
		DIW	10min
98	スパッタ前洗浄	希フッ酸 (DHF) (HF : H2O=1 : 50)	目視 (15s)

		DIW	10min
		アンモニア過水 (APM)boil 120℃ (NH <sub>4</sub> OH : H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> : H <sub>2</sub> O=1 : 1 : 6)	10min
		DIW	10min
		塩酸過水 (HPM)boil 120℃ (HCL : H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> : H <sub>2</sub> O=1 : 1 : 6)	10min
		DIW	10min
		希フッ酸 (DHF) (HF : H <sub>2</sub> O=1 : 50)	目視 (30s)
		DIW	5min
		スピン乾燥	
99	T i / T i N / Al-Si/TiN スパッタ	ターゲット : Al-1 % Si	
		Ar=50sccm	
		Press.=0.5Pa	
		DC Power=1kW	
100	膜厚測定	本体W f	
		Ref	
101	フォトリソ (Al 配線)	MASK METAL (EB:ネガ)	
		レジスト塗布 (・)	
		露光 (i 線ステッパー)	
		現像 (・)	
102	UV 照射		30min
103	Al エッチング	Metal 系 RIE	
104	膜厚測定	本体W f	
		Ref	
105	レジスト除去 (水洗い)	O <sub>2</sub> アッシャー	40min
		アセトン	5min
		メチル	1min
106	Al-1 % Si 除去	Metal 系 RIE	1min
		SF <sub>6</sub> =10sccm	
		Press.=5.0Pa	
		RF Power=100W	
107	表面観察	本体W f	
		Ref	
108	プローバ特性チェック		
109	水素アニール前処理	アセトン	5min
		メチル	1min

110	水素アニール (ランク B)	N2=3.0L/min	30min
		H2=120ml/min	
		400 °C	
111	プローバ特性チェック		
112	フォトリソ (redox センサ Pt 電極)	MASK GP2 (EB:ポジ)	
		塗布前ベーク 160 °C	5min
		LOR30B 塗布	
		1st 500rpm	5sec
		2nd 4500rpm	45sec
		プリベーク 170 °C	5min
		レジスト塗布 (・)	
		露光 (i 線ステッパ)	
		現像 (・)	
113	Ti スパッタ	Ar	20min
		Press.=0.2Pa	
		RF power=200W	
		Sub. 回転有り	
114	Pt スパッタ	Ar	30min
		Press.=0.5Pa	
		Power=50W	
115	膜厚測定	本体W f	
		Ref	
116	リフトオフ	Remover PG	2hr
		IPA	5min
117	P-SiO 膜形成	Plasama CVD 装置 (C-rank)	13min
		SiH4=65sccm	
		N2O=120sccm	
		Press.=67Pa	
		Temperature=300 °C	
		RF Power=30W	
118	膜厚測定	本体W f	
		Ref	
119	P-SiN 膜形成	Plasama CVD 装置 (C-rank)	6min
		SiH4=117sccm	
		NH3=6sccm	
		N2=183sccm	
		Press.=75Pa	
		Temperature=300 °C	
		RF Power=100W	
120	膜厚測定	本体W f	
		Ref	
121	水素アニール前処理	アセトン	5min

		メチル	1min
122	水素アニール (ランク C)	N2=10L/min	30min
		H2=0.4l/min	
		400 °C	
123	フォトリソ (P-SiN 開口)	MASK GP3 (EB:ポジ)	
		レジスト塗布 (・)	
		露光 (i 線ステッパー)	
		現像 (・)	
124	UV 照射		30min
125	P-SiN エッチング	C-rank F 系 RIE	50min
126	膜厚測定	本体W f	
		Ref	
127	P-SiO エッチング	C-rank F 系 RIE	50min
128	膜厚測定	本体W f	
		Ref	
129	レジスト除去	アセトン	5min
		メチル	1min
130	フォトリソ (redox センサ Pt 電極)	MASK GP9 (EB:ポジ)	
		塗布前ベーク 160 °C	5min
		LOR30B 塗布	
		1st 500rpm	5sec
		2nd 4500rpm	45sec
		プリベーク 170 °C	5min
		レジスト塗布 (・)	
		露光 (i 線ステッパー)	
		現像 (・)	
131	Ti スパッタ	Ar	20min
		Press.=0.2Pa	
		RF power=200W	
		Sub. 回転有り	
132	Pt スパッタ	Ar	30min
		Press.=0.5Pa	
		Power=50W	
133	膜厚測定	本体W f	
		Ref	
134	リフトオフ	Remover PG	2hr
		IPA	5min
135	プローバ特性チェック		
136	プローバ特性チェック		
137	ダイシング		

138	パッケージング		
-----	---------	--	--

## 付 録 B      アニール時間によるバイポーラトランジスタの特性

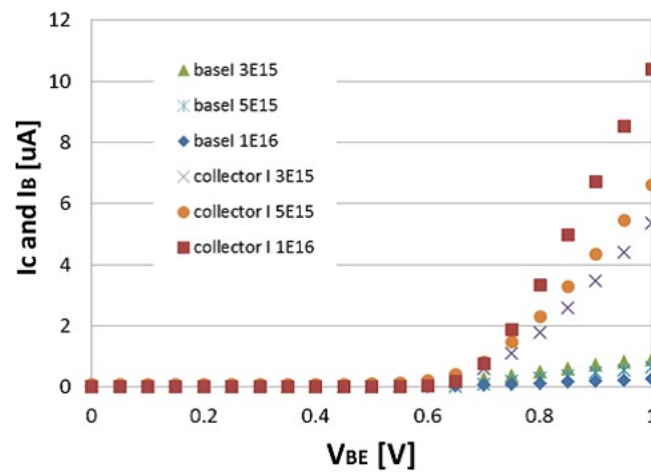


図 B.1:  $I_C, I_B$ - $V_{BE}$  (アニール時間 20min)

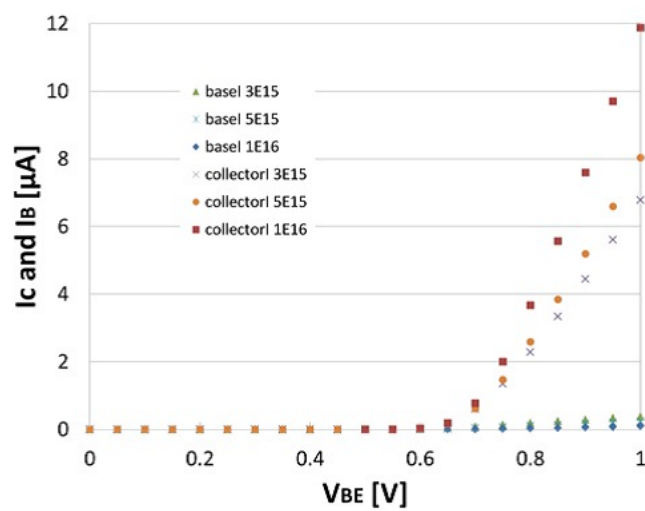


図 B.2:  $I_C, I_B$ - $V_{BE}$  (アニール時間 40min)

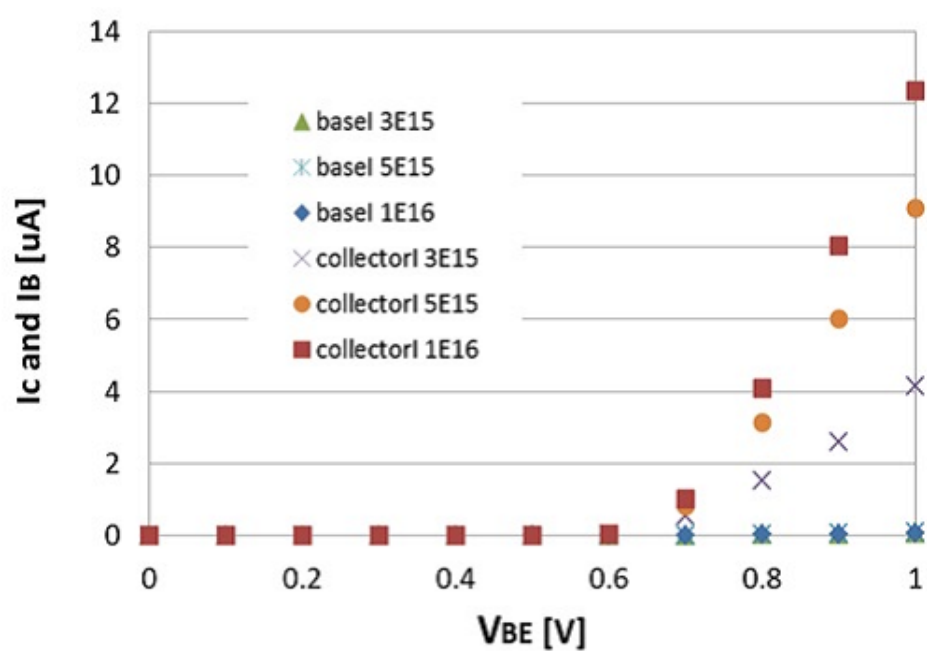


図 B.3:  $I_c, I_B$ - $V_{BE}$  (アニール時間 80min)

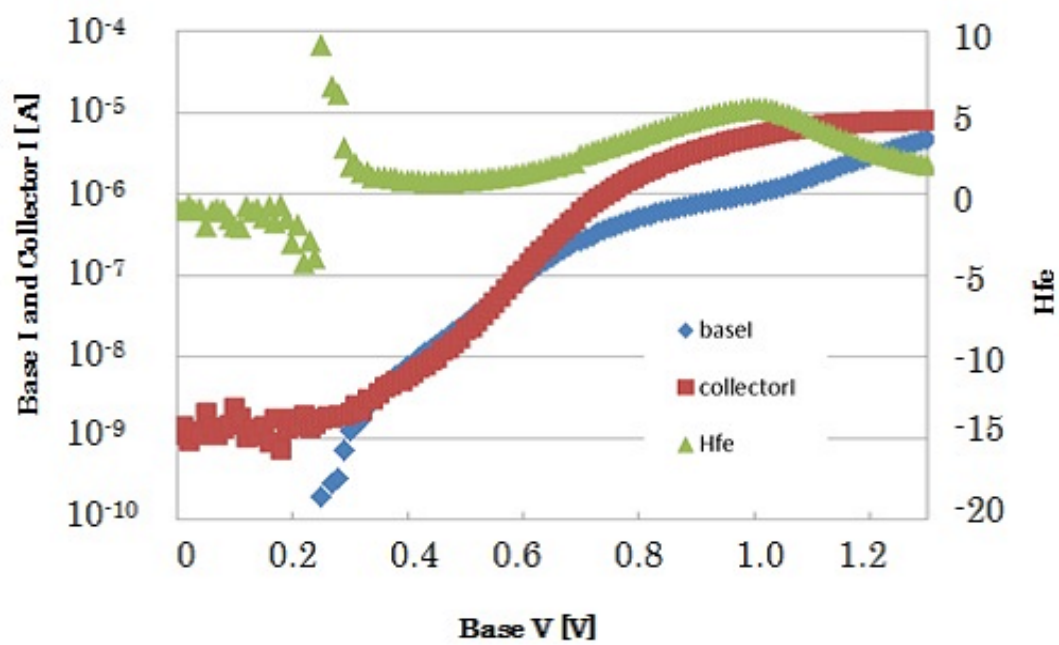


図 B.4: Gummel Plot and  $H_{fe}$  (20min ドーズ量:3E15)



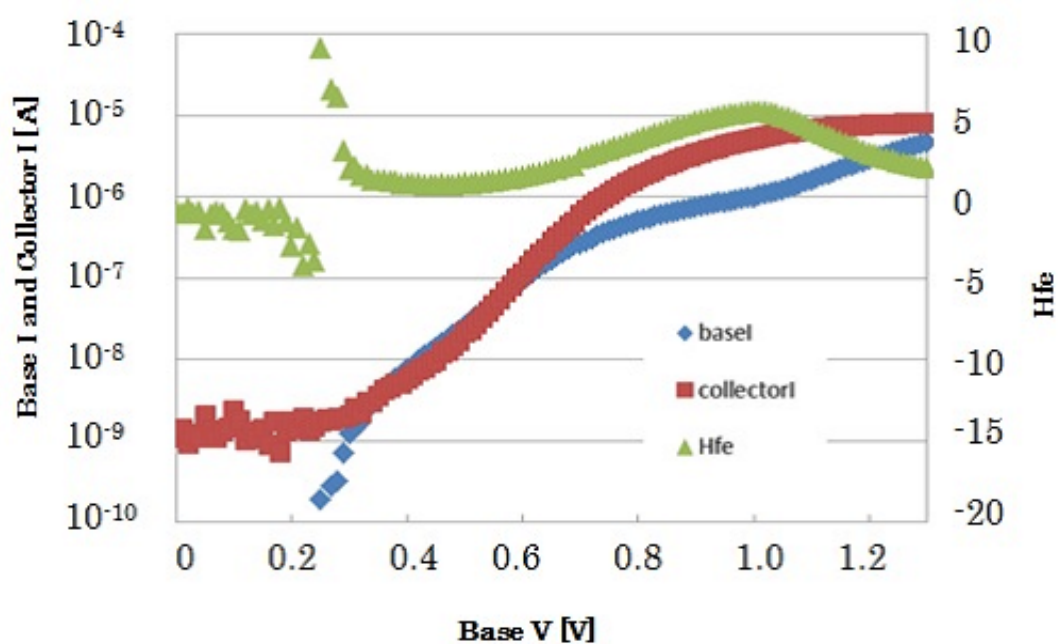


図 B.5: Gummel Plot and Hfe (20min ドーズ量:5E15)

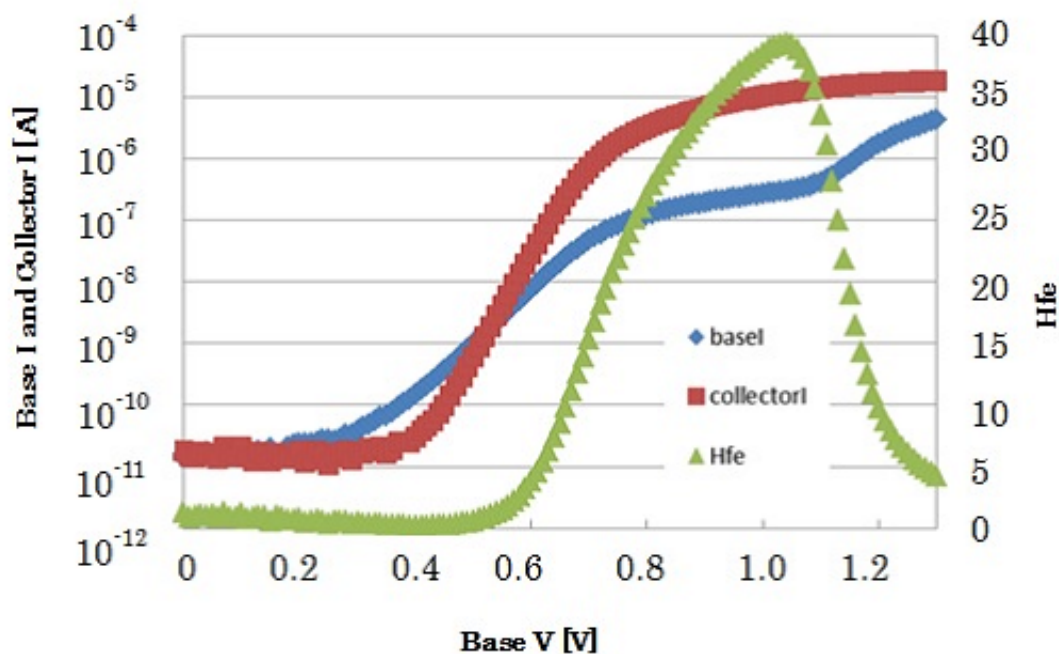


図 B.6: Gummel Plot and Hfe (20min ドーズ量:1E16)

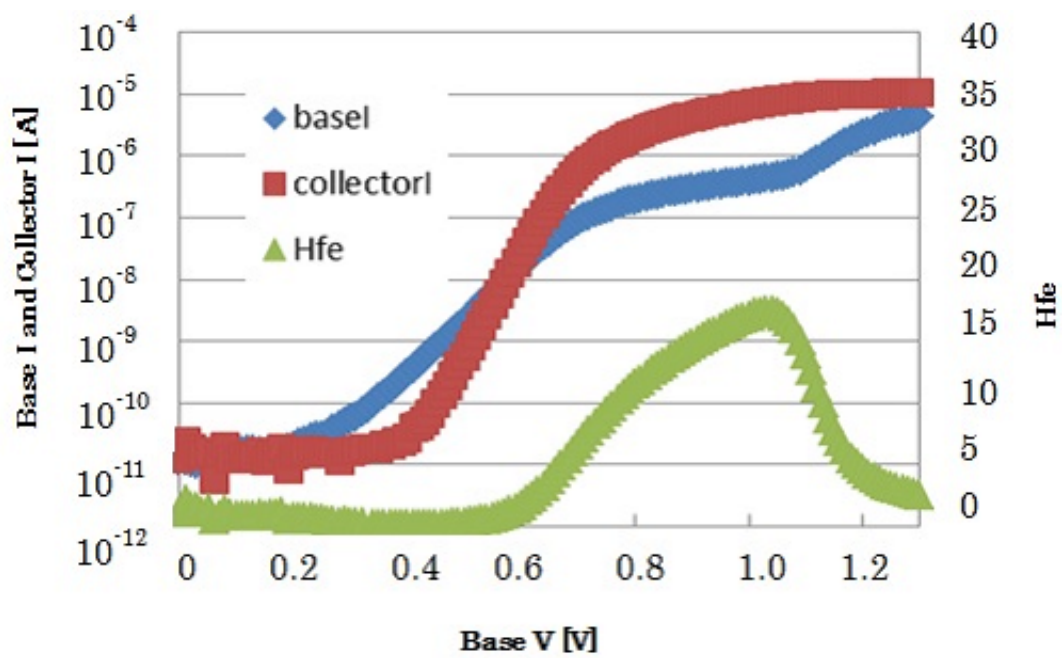


図 B.7: Gummel Plot and Hfe (40min ドーズ量:3E15)

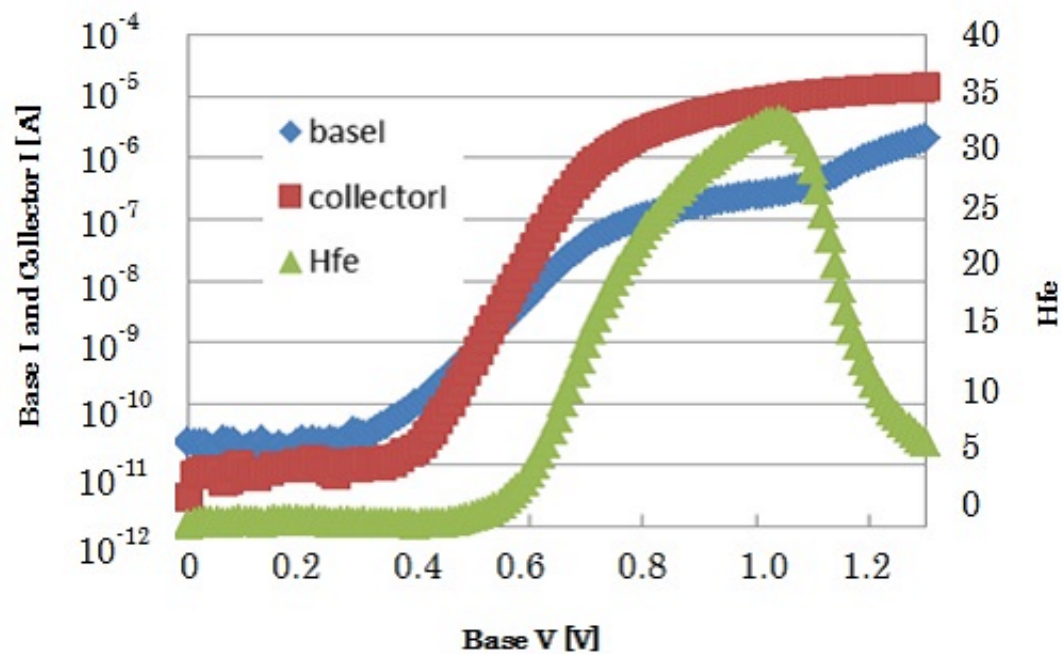


図 B.8: Gummel Plot and Hfe (40min ドーズ量:5E15)

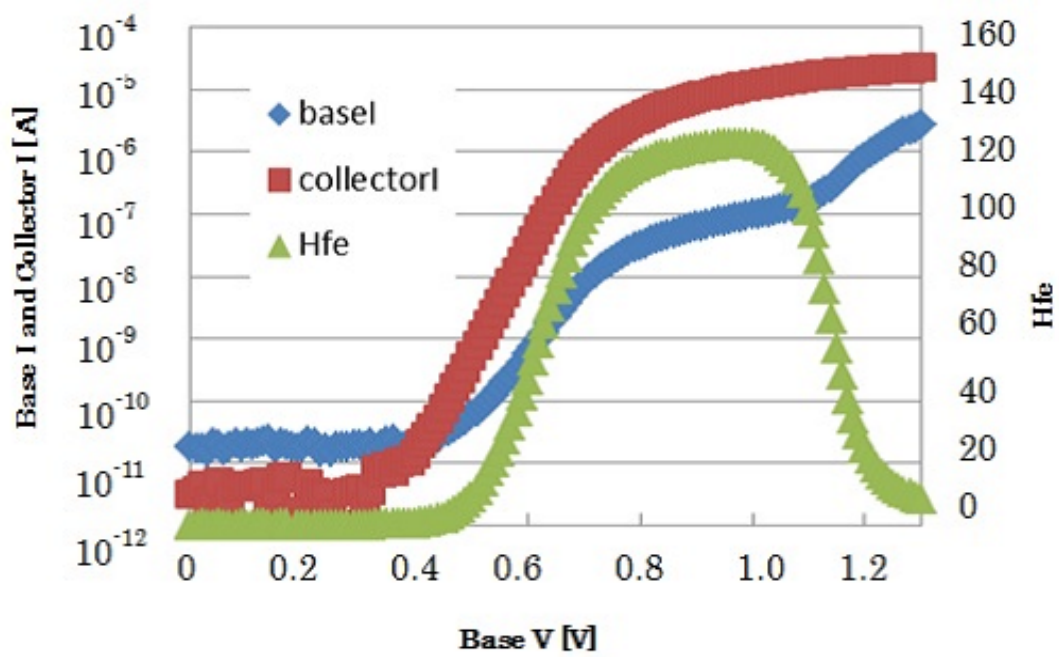


図 B.9: Gummel Plot and Hfe (40min ドーズ量:1E16)

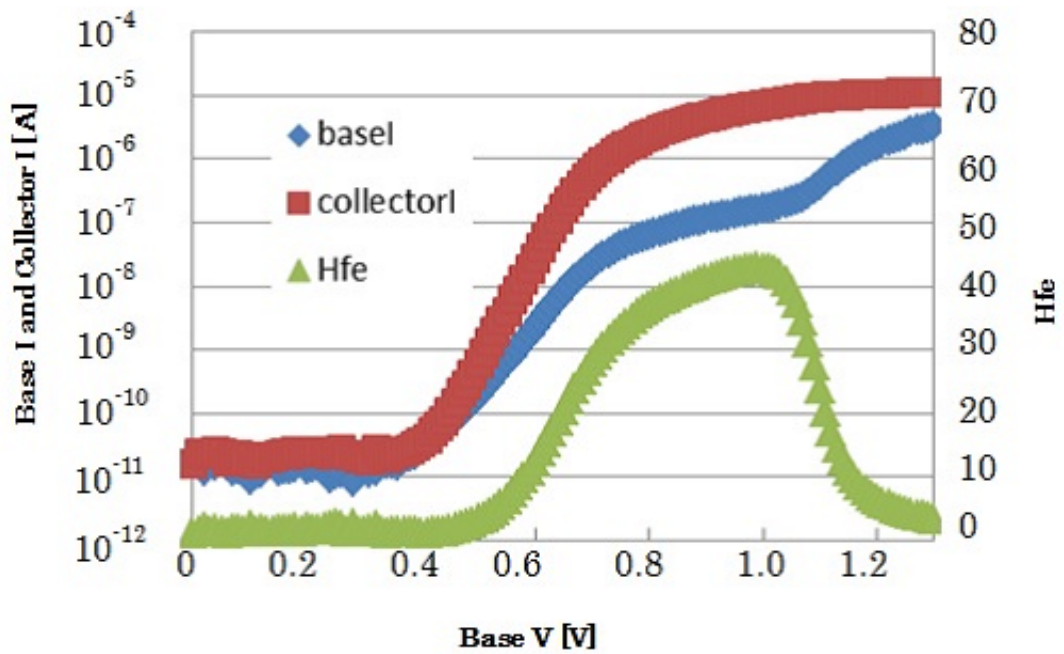


図 B.10: Gummel Plot and Hfe (60min ドーズ量:3E15)

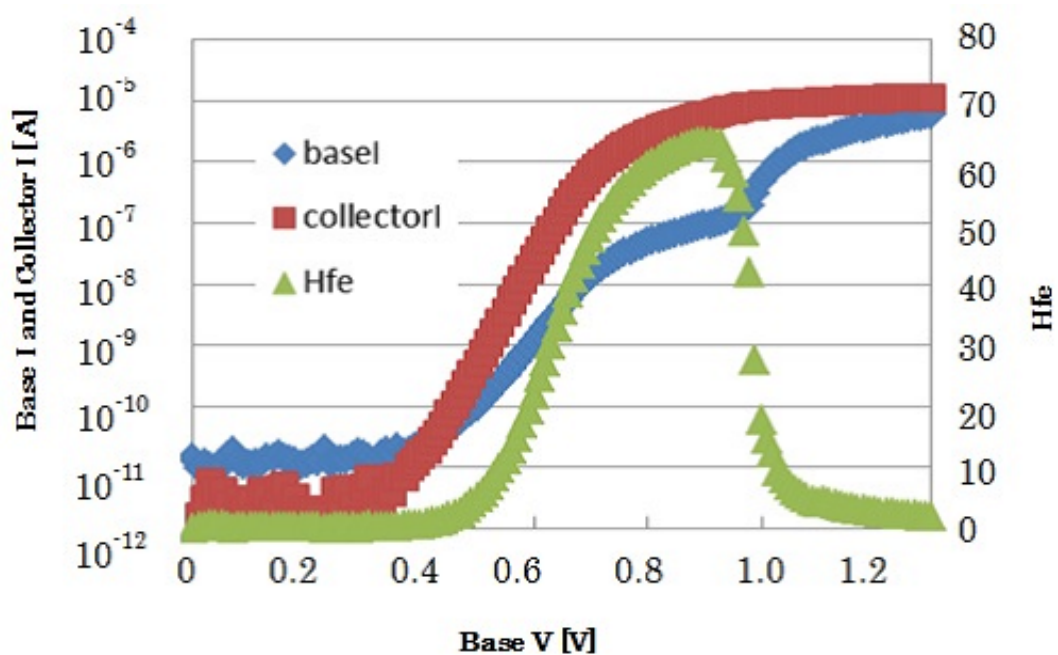


図 B.11: Gummel Plot and Hfe (60min ドーズ量:5E15)

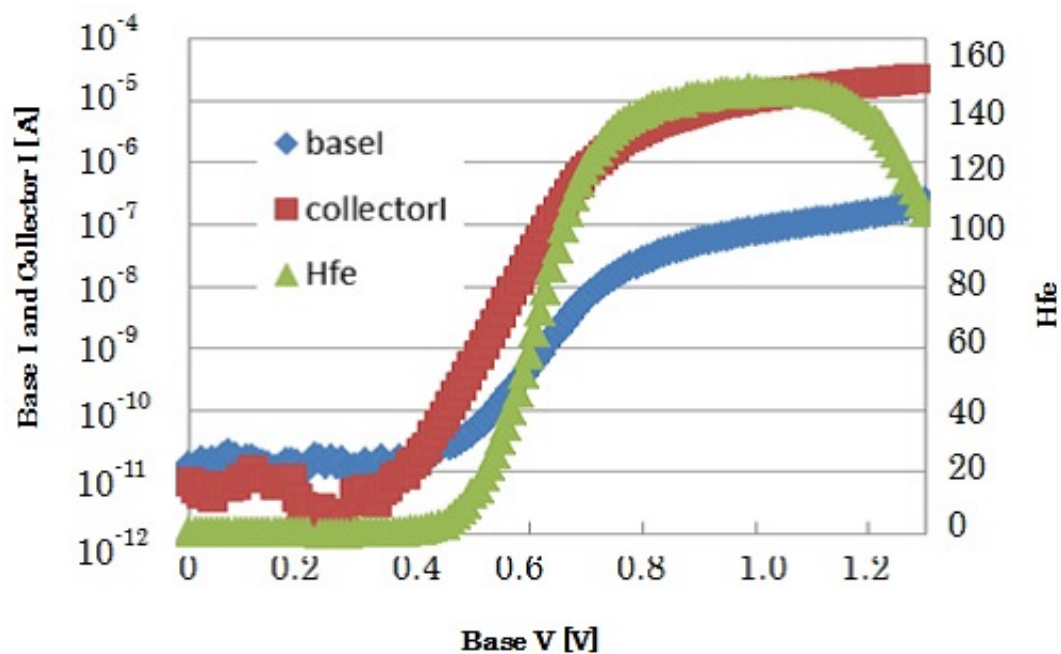


図 B.12: Gummel Plot and Hfe (60min ドーズ量:1E16)

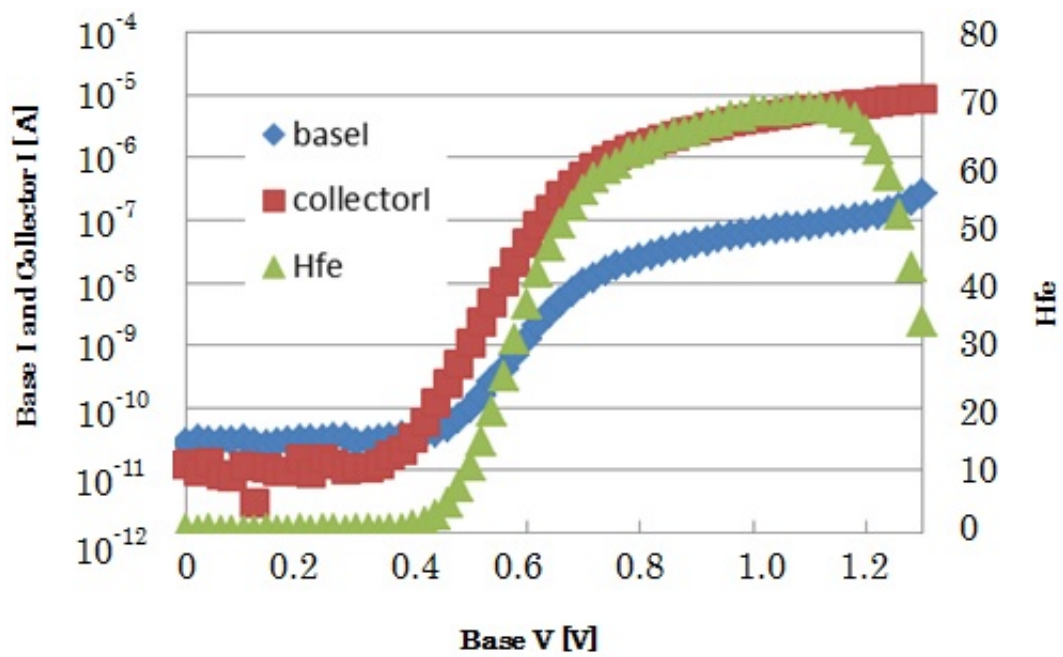


図 B.13: Gummel Plot and Hfe (80min ドーズ量:3E15)

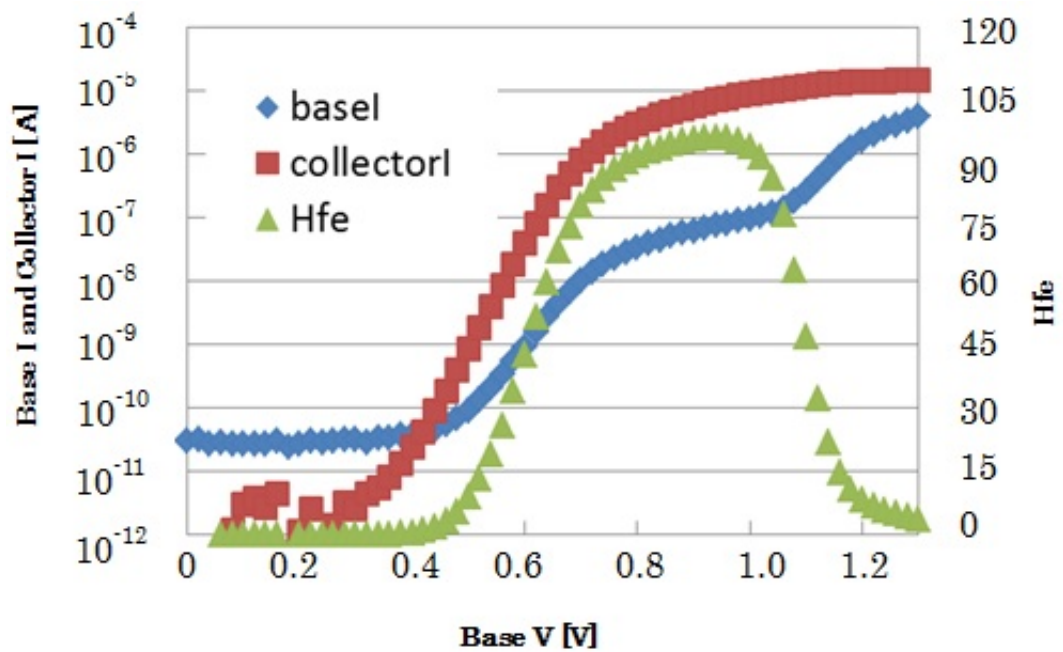


図 B.14: Gummel Plot and Hfe (80min ドーズ量:5E15)



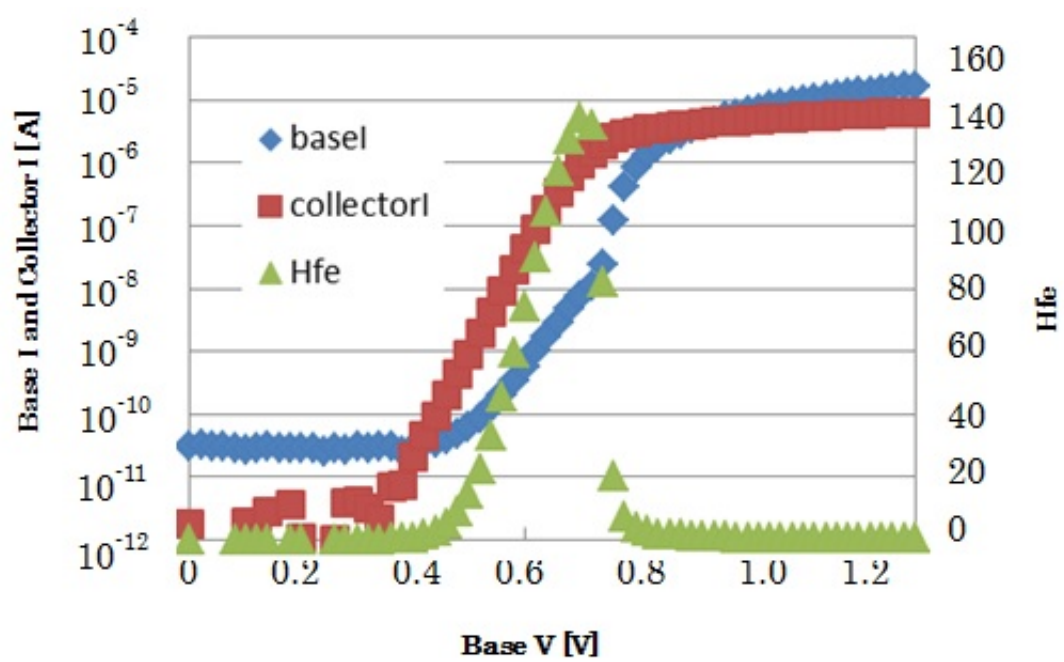


図 B.15: Gummel Plot and Hfe (80min ドーズ量:1E16)