

# Readout

HORIBA Technical Reports

特集 半導体プロセス計測

August 1996 ■ No.13

---

## 微小領域の pH 分布測定のための 二次元 pH 測定技術

2-dimensional pH Measurement Technology for Measuring  
pH Distribution on Minute Areas

中尾 基・野村 聡・中西 剛・高松 修司・富田 勝彦

Motoi NAKAO, Satoshi NOMURA, Tsuyoshi NAKANISHI,

Shuji TAKAMATSU, Katsuhiko TOMITA

(Pages 75-80)

---

株式会社 堀場製作所



# 微小領域のpH分布測定のための 二次元pH測定技術

## 2-dimensional pH Measurement Technology for Measuring pH Distribution on Minute Areas

中尾 基・野村 聡・中西 剛・高松 修司・富田 勝彦  
Motoi NAKAO, Satoshi NOMURA, Tsuyoshi NAKANISHI,  
Shuji TAKAMATSU, Katsuhiko TOMITA

### 【要旨】

堀場製作所の基盤技術の一つであるpH測定の応用範囲を広げるため、微小領域のpH分布を二次元で捉えられる、二次元pH測定技術の開発に取り組んでいる。この技術は、これまでの均一な溶液での測定という前提を打ち破るもので、これまで不可能であった測定が可能となった。この技術開発の現状と、この技術によってpH測定の可能性がどこまで拡大したかについて述べる。

### Abstract

To expand the field of application of pH measurement, one of HORIBA's base technologies, we have been engaged in the development of 2-dimensional pH measurement technology capable of capturing the pH distribution on minute areas. This technology does away with the conventional presumption of measuring on uniform liquids, enabling measurement that has been impossible up till now. This paper deals with the current state of development into this technology, and how this technology has expanded the possibility of pH measurement.

## 1. はじめに

当社創業のきっかけとなったpH測定技術は、測定用のガラス電極とメーターの双方について、時代の要求や周辺技術の進歩に合わせて発展・改良されてきた。その経緯や成果は、これまでも本誌に紹介されてきた<sup>1~3)</sup>。しかし、それらはあくまでも、試料全体にわたって均一なpH分布を示す場合での測定を前提としたものであった。我々はその前提を打ち破るべく、微小領域のpH分布を二次元で捉える技術開発に取り組んでいる。

## 2. 測定技術の概念

測定技術の概念は、電解質溶液中のpHの二次元分布を測定し、二次元pH画像として表示する技術である(図1)。電解質中の水素イオンに応答する均一な構造の平面型センサが、機能上は一定サイズの格子に分割され、それぞれの格子が独立してpH測定を行えるようにしたものである。そして、各格子でのpH値を格子の位置と対応させて並べることで、二次元のpH値の分布が捉えられる。

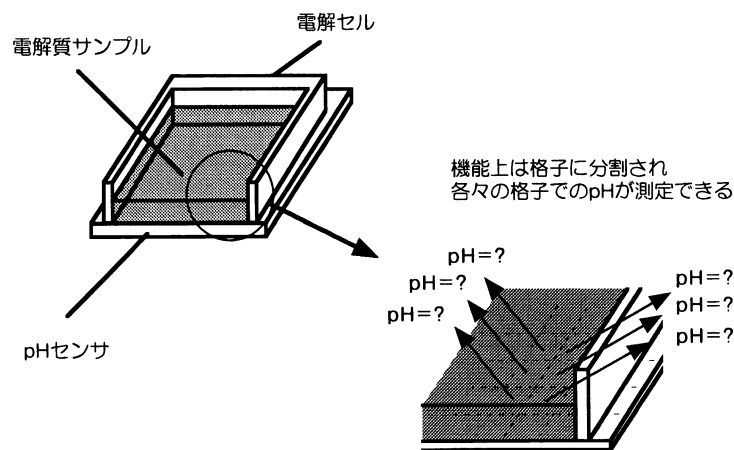


図1 二次元pH測定概念  
Concept of 2-dimensional pH measurement

### 3. 測定原理

装置の基本構成と測定原理について述べる。図2に測定のための装置構成を示す。センサは、半導体シリコン(Semiconductor)上に、絶縁層(Insulator)が堆積されたものを用いる。測定対象の電解質(Electrolyte)は絶縁膜上に設置され、絶縁膜と電解質の接する部分のpH分布が測定される。測定は、半導体シリコンと電解質との間にバイアス電圧を印加した状態で、光をセンサ裏面(シリコン側)に照射すると、半導体シリコンの光を照射された領域では、電流(光電流と呼ぶ)が流れ、その電流値が照射点の表面(絶縁層側)で接している電解質の水素イオン濃度に依存することを利用する。実際には、オーミックコンタクト-比較電極(RE)間にバイアス電圧を印加した状態で、一定周波数で変調された光をセンサ裏面に照射し、その結果流れる交流の光電流を、オーミックコンタクト-対極(CE)間で検出する。

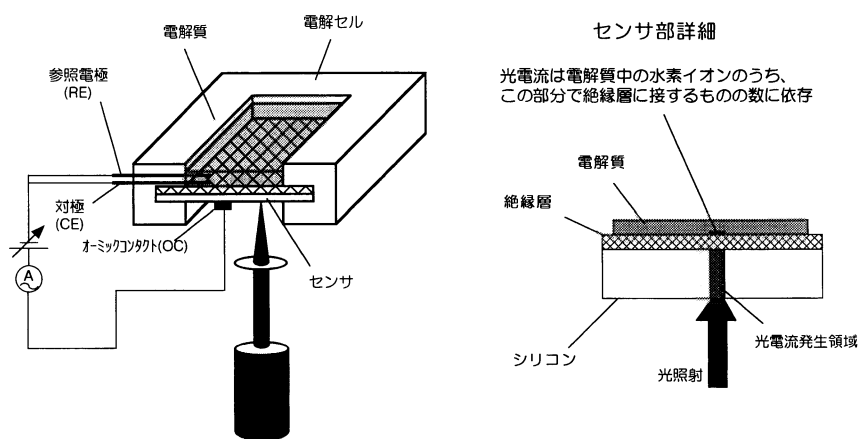


図2 二次元pH測定のための装置構成とセンサ部詳細  
Unit configuration and details of sensor for 2-dimensional pH measurement

ところで、この光電流は光を照射された近傍で発生するので、照射光のビーム径をできるだけ小さくし、シリコン面上を走査すれば、照射点に対応した部分の電解質の水素イオン濃度を独立して測定することができる。そこで光電流値と、光照射の位置とを対応させることにより、pH分布が二次元で表示できる。

なお、センサ表面で接する水素イオンの濃度に応じた光電流が流れる機構の詳細については別稿<sup>4~6)</sup>を参照されたい。

#### 4. 測定装置

本測定装置のブロックダイアグラムを図3に示す。制御のためのコンピュータがPC1で、センサ裏面への光照射が可能で、PC1より測定開始の指示が出されると、XYステージが所定の走査を始め、センサ部で発生した光電流が信号処理部で変換されて、PC1へ送られる。PC1は、各照射点の座標(XYステージの位置)と対応させながら、その点での光電流値を記録する。測定が終了すると、データが自動的に画像処理用コンピュータ(PC2)へ転送され、おのおのの照射点でのpH値をグレースケールあるいはカラースケールに変換して二次元pH画像として出力される。

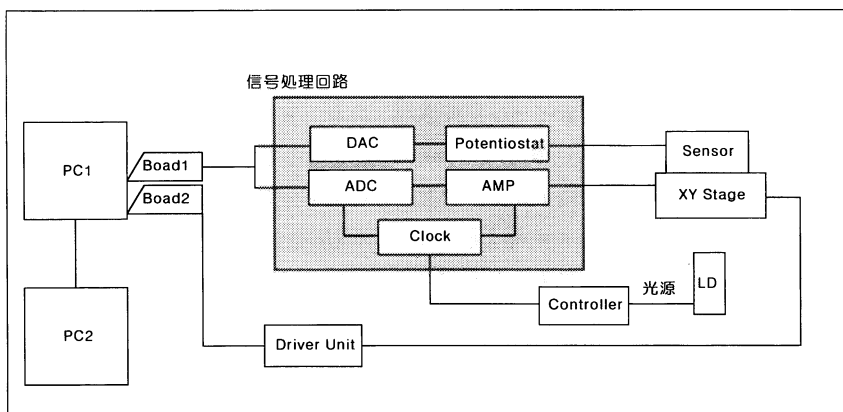


図3 二次元pH測定実験装置のブロックダイアグラム  
Block diagram of 2-dimensional pH measurement test unit

#### 5. 装置性能および測定例

##### 5.1 微生物の代謝過程の観察

微生物は周囲に適当な栄養分が存在すると、増殖を繰り返しながら、コロニーを形成する。その過程では、微生物は代謝を行い、その代謝物により近傍のpH値は一般的に減少する。本測定技術によって、このpH変化を捉えることで、生菌を検出したり、その活動状態の計測が可能となる。測定概念を図4に示す。

図5は、大腸菌を標準寒天培地にスパイラル植菌し、その一部を切り取り、植菌面がセンサと接するように設置して、培地とセンサの接触面のpH二次元画像の時間経過を測定したものである。

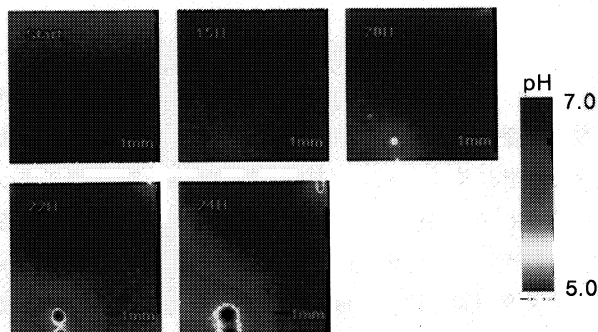


図5 大腸菌の代謝過程の観察  
黄色領域の内側が、微生物代謝による酸性化領域  
測定ピッチ：100  $\mu\text{m}$ 、測定点128 $\times$ 128点  
Observations in the metabolism process of E-coli  
Inside yellow area indicates the acidified region caused by microbial metabolism  
spacial resolution: 100  $\mu\text{m}$ , Measurement points 128 x 128

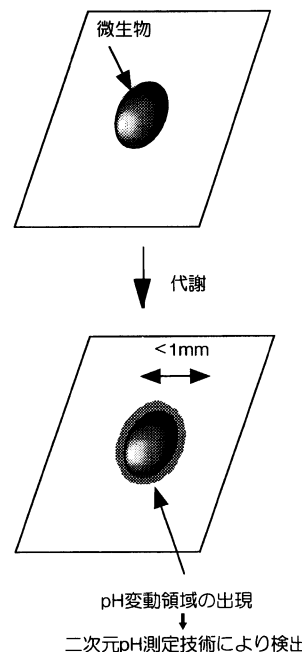


図4 二次元pH測定技術を用いた微生物の代謝過程の観察  
Observations of the metabolism process of a micro-organism using 2-dimensional pH measurement technology

ここで得られる画像は、微生物から放出された水素イオンの分布であり、微生物の活動の様子を捉えていることになる。本技術は、微生物の検出やその活動状態を計測する技術としての応用が期待されており、(財)地球環境産業技術研究機構(RITE)の事業のもとで「微生物活性度測定装置の開発」のテーマで開発を進めている。

## 5.2 リアルタイムモニタリング

pH分布が比較的速い時間に変化する系を用いて、本技術のリアルタイムモニタとしての評価も行った。比較的速いpH変化が予想される例として、陽イオン交換樹脂から中性ゲル中への水素イオンの放出、および、マイクロカプセルから中性ゲル中への水酸化物イオンの放出の過程を二次元pH画像でモニタリングした。

### (1) イオン交換樹脂からの水素イオンの放出過程のモニタリング

実験は直径0.5mm程度の陽イオン交換樹脂3粒を、三角形の頂点の位置に来るようにセンサ上に置き、その樹脂を厚さ1mmの寒天ゲルで覆い、樹脂内からイオン交換によって放出される水素イオンの二次元分布を2分間隔で測定した。測定開始時の水素イオンの二次元分布画像を図6に、測定開始時から2分ごとに得られた水素イオンの二次元分布画像の一部を図7に示す。

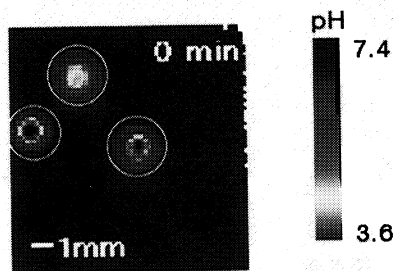


図6 イオン交換樹脂からの水素イオンの放出  
ゲル組成：1.5%寒天，0.1MKCl，NaOHでpH=7.4に調整  
測定ピッチ：200 $\mu$ m，測定点数：64 $\times$ 64点  
(白丸は酸性化領域を示す)  
Release of proton from ion exchange resin  
Gel composition: 1.5% agar, 0.1MKCl, adjusted to pH=7.4 by NaOH  
spacial resolution : 200  $\mu$ m, Number of measurement points: 64 x 64  
(White circle indicates acidified area.)

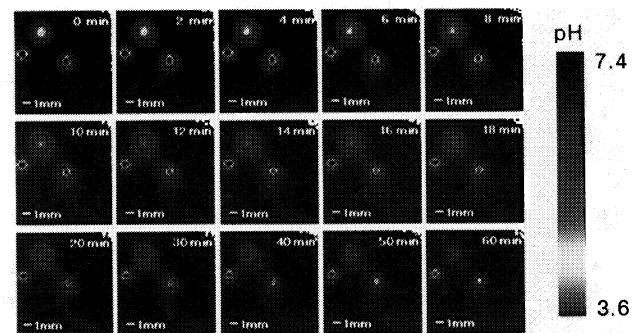


図7 イオン交換樹脂からの水素イオンの放出過程の観察  
Observations of the release of proton from ion exchange resin

各pH分布画像には、酸性化領域(図6中白色部分)が見られるが、これらの領域のpH値は全般的に上昇し、かつ、領域の面積が変動していく様子が捉えられている。特に、酸性化領域は、最初の10分ではやや広がり、それ以降は狭まり、周囲のゲルと区別がつきにくくなっている様子がわかる。これは、はじめのうちは水素イオンが交換されて、樹脂からの放出が盛んに起こるが、途中で水素イオンは交換されつくし、あとはゲル中に拡散するのみとなるからと考えられる。この結果は、陽イオン交換樹脂1個の単位で、樹脂からの水素イオンの放出過程をリアルタイムに捉えたもので、画期的な実験結果といえよう。

### (2) マイクロカプセルからの水酸化物イオンの放出過程のモニタリング

内部に水酸化カリウムを含んだ直径60 $\mu$ m程度のマイクロカプセルから、水酸化物イオンが放出される過程を観察した。有機媒質中に懸濁させたマイクロカプセルを厚さ1mmの寒天ゲル上に分散させ、これをセンサ面に向けて貼りつけて

2分間隔でpH画像を測定した。図8に実験開始時に得られたpH分布画像と120分後のpH分布画像を示す。実験開始時ではpHが高い領域は一箇所(図中白丸部, 以下アルカリ化領域とする)しか見られないが, 120分後では至る所にアルカリ化領域が出現していることがわかる。用いたカプセルは, 水溶液と接すると水酸化カリウムを放出するものであるが, アルカリ化領域はその放出によるものと考えられる。実験開始時から2分間隔で得られた一連のpH分布画像の一部を図9に示す。時間とともにアルカリ化領域が出現し, 図8の120分後のような分布を形成する様子が観測された。なお, アルカリ化領域はカプセルのサイズに比べ, かなり広いものが多いが, これは水酸化物イオンの拡散によるものと, カプセルが凝集してゲル上に分布しているためと考えられる。

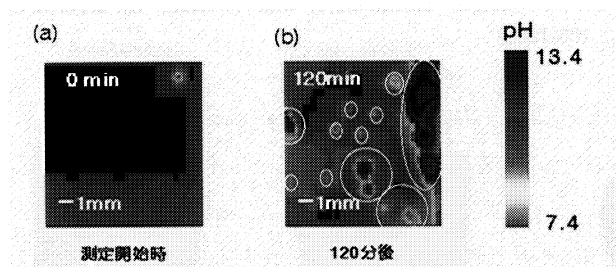


図8 マイクロカプセルからの水酸化物イオンの放出  
 ゲル組成: 1.5%寒天, 0.1MKCl, NaOHでpH=7.4に調整  
 測定ピッチ: 200  $\mu$ m, 測定点数: 64 $\times$ 64点  
 (白丸は酸性化領域を示す)  
 Release of hydroxide ion from microcapsule  
 Gel composition: 1.5% agar, 0.1MKCl, adjusted to pH=7.4 by NaOH  
 spacial resolution: 200  $\mu$ m, Number of measurement points: 64 x 64  
 (White circle indicates acidified area.)

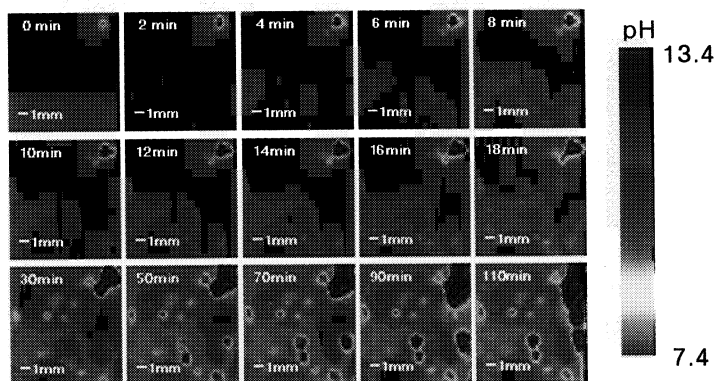


図9 マイクロカプセルからの水素イオンの放出過程の観察  
 Observations of the release of hydroxide ion from microcapsule

## 6. おわりに

これまでのpH測定は, 濃度が一定の均一な溶液での測定が前提とされていた。しかし, 本測定技術により1mm以下の微小領域を, 二次元で, かつ, リアルタイムで捉えることを可能とした。

このような, 微小な領域のpH変化のリアルタイム測定は, 従来のガラス電極では検出不可能なものを可能とした。すなわち, pH測定の可能性を広げたといえる。現在のところ, 位置分解能0.1mm, pH分解能0.1pHが得られているが, 今後も, pH分解能の向上のみならず, 位置分解能の向上, 測定時間の短縮を行い, さらにpH測定の可能性を広げることに挑戦したい。

## 謝辞

本論文内の微生物の代謝過程の観察にあたり、微生物である大腸菌の提供と実験的なサポートをしていただいた株式会社中埜酢店の赤野裕文氏、福重朋明氏、玉井寿典氏、および、マイクロカプセルの提供をしていただいた、松本油脂製薬株式会社の岩下良明氏に感謝いたします。

## <参考文献>

- 1) 大川浩美, 富田勝彦, 小島淳二, Readout, No.1, 24-31 (1990)
- 2) 森建, Readout, No.8, 28-36 (1994)
- 3) 吉岡伸樹, 中嶋嘉之, Readout, No.9, 71-76 (1994)
- 4) Nakao, M., Yoshinobu, T. and Iwasaki, H. Sens. & Actuators, B, 20, 119-123 (1994)
- 5) Nakao, M., Yoshinobu, T. and Iwasaki, H. Jpn. J. Appl. Phys. 33, L394-L397 (1994)
- 6) Nakao, M., Inoue, S., Oishi, R., Yoshinobu, T. and Iwasaki, H. J. Fermentation and Bioeng. 2, 163-166 (1995)



中尾 基

Motoi NAKAO

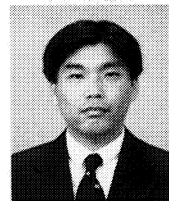
開発センター  
1995年入社  
センサ研究開発  
工学博士



野村 聡

Satoshi NOMURA

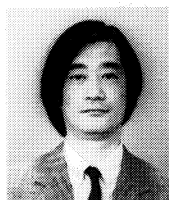
開発センター 主任  
1991年入社  
センサ研究開発  
(RITE-吉祥院 第2研究室)



中西 剛

Tsuyoshi NAKANISHI

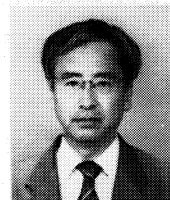
開発センター 主任  
1986年入社  
センサ研究開発  
(RITE-吉祥院 第2研究室)



高松修司

Syuji TAKAMATSU

開発センター 係長  
1982年入社  
センサ関連応用開発  
(RITE-吉祥院 第2研究室)



富田勝彦

Katsuhiko TOMITA

開発センター シニアマネジャー  
1967年入社  
センサ・デバイス及び関連応用開発  
(RITE-吉祥院 第2研究室 主任研究員)





