



超高解像度電気化学顕微鏡の創成と応用

松岡 涼,^a 青柳 重夫,^{a,*} 松本 尚志,^a 松平 昌昭,^a 高橋 康史,^{b,c} 熊谷 明哉,^{d,e}
井田 大貴,^d 棟方 裕一,^f 飯田 克彦,^g 珠玖 仁,^h 金村 聖志,^f 末永 智一,^{d,e,h}

^a 北斗電工株式会社 (〒243-0801 神奈川県厚木市上依知上の原3028)

^b 金沢大学理工学研究域電子情報学系 (〒920-1192 石川県金沢市角門町)

^c JST さきがけ (〒332-0012 埼玉県川口市本町4-1-8)

^d 東北大学大学院環境科学研究科 (〒980-8579 宮城県仙台市青葉区荒巻字青葉6-6-11)

^e 東北大学原子分子材料科学高等研究機構 (〒980-8577 宮城県仙台市青葉区片平2-1-1)

^f 首都大学東京大学院都市環境科学研究科 (〒192-0397 東京都八王子市南大沢1-1)

^g 株式会社ナノコントロール (〒176-0012 東京都練馬区豊玉北4-11-10)

^h 東北大学大学院工学研究科 (〒980-8579 宮城県仙台市青葉区荒巻字青葉6-6-11)

Advanced Scanning Electrochemical Microscope System for High-Resolution imaging and Electrochemical Applications

Ryo MATSUOKA,^a Shigeo AOYAGI,^{a,*} Naoshi MATSUMOTO,^a Masaaki MATSUDAIRA,^a
Yasufumi TAKAHASHI,^{b,c} Akichika KUMATANI,^{d,e} Hiroki IDA,^d Hirokazu MUNAKATA,^f
Katsuhiko IIDA,^g Hitoshi SHIKU,^h Kiyoshi KANAMURA,^f and Tomokazu MATSUE^{d,e,h}

^a Hokuto Denko, 3028 Kamiiechi Uenohara, Atsugi, Kanagawa 243-0801, Japan

^b Division of Electrical and Computer Engineering, Kanazawa University, Kakuma, Kanazawa, Ishikawa 920-1192, Japan

^c PRESTO, JST, 4-1-8 Hon, Kawaguchi, Saitama 332-0012, Japan

^d Graduate School of Environmental Studies, Tohoku University, 6-6-11 Aramaki, Aoba-ku, Sendai, Miyagi 980-8579, Japan

^e WPI-Advanced Institute for Materials Research, Tohoku University, 2-1-1 Katahira, Aoba-ku, Sendai, Miyagi 980-8577, Japan

^f Graduate School of Urban Environmental Sciences, Tokyo Metropolitan University, 1-1 Minami-Ohsawa, Hachioji, Tokyo 192-0397, Japan

^g Nano Control, 4-11-10 Toyotama-kita, Nerima-ku, Tokyo 176-0012, Japan

^h Graduate School of Engineering, Tohoku University, 6-6-11 Aramaki, Aoba-ku, Sendai, Miyagi 980-8579, Japan

* Corresponding author: aoyagi@hokuto-denko.co.jp

ABSTRACT

We developed three modes of high resolution scanning probe microscope system based on electrochemical principles, scanning ion conductance microscopy (SICM), scanning electrochemical microscopy-scanning ion conductance microscopy (SECM-SICM), and scanning electrochemical cell microscopy (SECCM). Firstly, a developed SICM system was constructed with a nanopipette filled with electrolyte solution as a probe. High resolution topographic images of NanoCulture[®] Plate with hexagonal chambers with 2 μm-width banks, electro-deposited PEDOT (poly(3,4-ethylenedioxythiophene)) film, and fixed human squamous cell carcinoma were captured by the SICM. Second, SECM-SICM was performed with a double-barrel carbon nanoprobe. The one barrel of the nanoprobe was filled with carbon and used for SECM apparatus, the other barrel was filled with electrolyte for SICM configurations. Using the SECM-SICM system, simultaneous topographic and electrochemical images of micro-band electrodes with 10 μm-width line and space, and a cathode site of corrosion in the aluminum die gusto with submicron spatial resolution were obtained. Thirdly, the SECCM featuring a nanopipette probe filled with LiCl electrolyte was applied for obtaining topographies and images of current activity of a LiFePO₄ electrode.

© The Electrochemical Society of Japan, All rights reserved.

Keywords : Scanning Ion Conductance Microscopy, Scanning Electrochemical Microscopy, Scanning Electrochemical Cell Microscopy, Nanoprobe

1. 諸言

1982年に走査型トンネル顕微鏡 (scanning tunneling microscopy: STM) がIBM チューリッヒ研究所の Binnig と Rohrer により発明されて以来¹, この技術は急速な進歩をとげ、今では原子を観測するだけでなく、原子1個を操

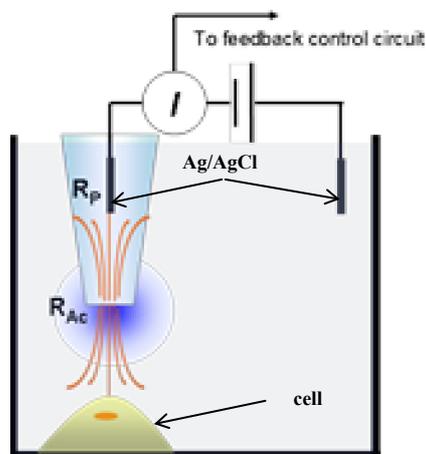
ることも可能となった。STMの関連技術である走査型電気化学顕微鏡 (scanning electrochemical microscopy: SECM) は、STMや原子間力顕微鏡 (atomic force microscopy: AFM) と比較すると①試料局所領域の化学反応に関する定量的な情報を in situ で与える、②局所領域に化学反応を誘起できる、という特徴を有している。

STMでは、電圧を印加した微小電極と電子伝導体である試料が1 nm程度近づくと、トンネル電流が流れ始める。トンネル電流が一定になるように微小電極を試料表面上で走査することにより、試料表面の凹凸や原子像を観測できる。STMがトンネル電流を検出するのに対し、SECMでは電気化学反応を微小な電極表面で進行させ、電極-試料間に存在する電気化学活性種の検出を可能とする点で異なる。

SECMのプローブ電流は微小電極直下の試料部位の電気化学活性種（導電性、絶縁性）を反映する。よって、SECMでは、試料表面が平坦な場合には、電極間距離を一定に保持しながら微小電極を面方向に走査すると、試料表面の電極反応活性の分布を与える電流像を得ることができる。

SECMの局所領域の測定例としては、細胞²、初期胚^{3,4}、DNA⁵、腐食^{6,7}等が挙げられる。従来のSECMの解像度は微小電極の電極径により決まるので、STMやAFMより解像度が悪いことが課題である。解像度の向上には、電極の微細化と電極-試料間距離の制御が求められている⁸。解像度の向上を目的として、サブミクロンオーダーの電極も報告されている^{9,10}。また、電極-試料間距離を一定に保つ制御システムとして、原子間力顕微鏡 (AFM)^{11,12}、シアホース^{13–15}、インピーダンス^{16,17}による電極の位置を制御する方式が報告されている。

今回開発した解像度の向上を目指した超高解像走査型電気化学顕微鏡は、従来報告してきたSECMと次の点で異なる。(i)我々が報告してきたSECMの画像は、距離制御機構を用いず高さ一定モードでの報告が多かったが、超高解像走査型電気化学顕微鏡は、イオン電流のフィードバック制御による距離制御機構を採用した (Fig. 1)。(ii)我々がSECMの報告に用いてきた微小電極の電極径は5–20 μm の白金等であったが、本論文ではカーボンナノ電極とナノピペットから成る複合ナノプローブを用いた。超高解像度走査型電気化学顕微鏡にイオン電流の制御機構とカーボンナノ電極を用いることで、従来のSECMの解像度のミクロンオーダーと比較して、サブミクロンオーダーの高解像度な電気化学イメージングを目指した。



R_p : Nanopipette Resistance

R_{ac} : Access Resistance

Figure 1. (Color online) Schematic view of scanning ion conductance microscopy (SICM).

生細胞表面の微小構造や化学物質の濃度変化が、生細胞の生理学的に重要な役割を果たしている。そのため、生細胞表面の微小構造の形状測定は、細胞機能を理解する上で重要である¹⁸。一般的な光学顕微鏡では、細胞を生理的条件下で観察することが可能であるが、200 nm程度の空間分解能である。電子顕微鏡はナノメートルスケールの空間分解能で観察が可能であるが、生理的条件下での観察ができない¹⁸。ナノピペットを用いた非接触計測法である走査型イオンコンダクタンス顕微鏡 (scanning ion conductance microscopy: SICM) を用いると、光学顕微鏡より高い空間分解能でかつ生理的条件下での観察が可能である。

SICMは、ナノピペットに挿入したAg/AgCl線と、測定液中に配置したAg/AgCl電極間に電圧を印加することにより発生するイオン電流を測定する (Fig. 1)^{19,20}。イオン電流は、ナノピペット先端を移動するイオン量に依存する²。Figure 1に示すように、ナノピペットが細胞に近接すると空間的に移動するイオン量が阻害されてイオン電流が減少する^{2,18}。SICMでは、開口径は10–100 nmのナノピペットを用いているので、50 nm程度の空間分解能を有する高解像度イメージングが可能である。また、SICMのイオン電流の距離制御機構には、ホッピングモードを採用した^{21,22}。ホッピングモードでは、ナノピペットを試料の接近によるイオン電流の減少が起こらない地点からアプローチさせ、電流値が0.5–1%減少した基準値に達した位置のZ座標を記録後、任意の高さまでナノピペットを引き上げ、次のX、Y座標の決定を繰り返すことで、細胞の形状イメージを得ることができる⁸。このホッピングモードを採用することで、ナノピペットを試料と接触することなく、接近させることができるので、細胞を生理的条件下で観察することが可能となる。

SICMの測定例としては、生細胞 (Hela細胞、CHO細胞、MCF-7細胞、C2C12細胞) の表面形状測定²²、ヒト扁平上皮癌細胞 (A431) へ細胞分裂等の形態変化を付与する上皮成長因子 (Epidermal Growth Factor: EGF) を添加後の連続した形態測定²³、ウイルス様粒子と細胞表面の相互作用の評価²⁴等が挙げられる。

従来の電気化学測定法では、試料全体を電解液に浸漬する必要がある。SECMでは、金属電極を μm オーダーに微細化したプローブを用いることで、局所領域における電気化学反応が測定可能である。しかし、試料全体が浸漬しているために、電気化学反応に寄与する電気化学活性種が半球状に拡散し、試料表面で起こる反応性を定量的に切り出して測定することは困難である²⁵。そこで、Unwinらは、プローブとして参照極と電解液を充填したガラスキャピラリーを用い、試料表面とプローブ表面で形成されるメニスカス (電気化学セル) を介して試料表面における局所的な電気化学反応を捉えることができる走査型電気化学セル顕微鏡 (scanning electrochemical cell microscopy: SECCM) を開発した。SECCMにより試料全体を測定液に浸すことなく測定が可能となり、メニスカスを介することにより、電気化学種の拡散を抑えることが可能となった。SECCMを用いて、Al合金の電気化学活性の不均一性の評価²⁶、高配向熱分解黒鉛 HOPG (Highly Oriented Pyrolytic Graphite) の酸化被膜の測定²⁷、Ptナノ粒子の結晶方位による反応速度の相違の評価²⁸が報告されている。

UnwinらのSECCMに用いたガラスキャピラーの開口径は300 nm–1 μm であった。一方、我々は、SECCMの更なる高解像度化を実現するために、ガラスキャピラリーを尖鋭化し、電解液を充填した開口径が10–100 nmのナノピペットをプローブとして利用し、リチウムイオン電池の電極表面でおこるイオンの挿入・脱離過程を、メニスカスを介して評価可能なナノ電気化学セル顕微鏡(nanoSECCM)の開発に成功した^{25,29}。Figure 2に示すように、メニスカス部分に電解液が存在し、試料基板の局所領域の電気化学反応を観測できることがnanoSECCMの特徴である。nanoSECCMでは、電解液を充填した開口径が100 nmのナノピペットと試料の間に測定液のメニスカスを形成し、リチウムイオンの挿入脱離に伴う局所的な各測定点の電流測定が可能となった²⁹。また、このとき、作用極として供試した LiFePO_4 合剤電極は導電性である。

本論文では、以下に開発した3機種の超高解像度走査型電気化学顕微鏡の概要及びその応用について記す。

① SICMでは、プローブに電解液を充填したナノピペットを用いたイオン電流のフィードバックシグナルによる試料の高解像度の形状イメージングを行った。

② SECM-SICMでは、SECM測定のカボンナノ電極とSICM測定のナノピペットから構成される複合ナノプローブ(ダブルバレル型ナノプローブ)を作製し、電気化学イメージと形状イメージを同時取得可能なSECM-

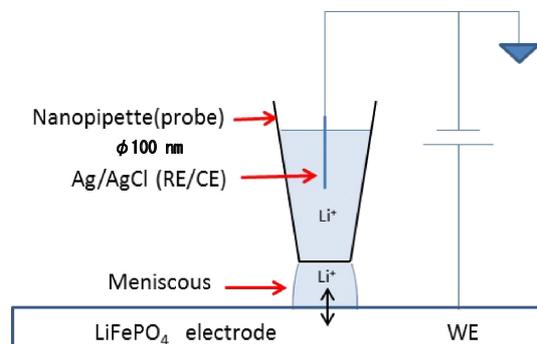


Figure 2. (Color online) Schematic view of nano scanning electrochemical cell microscopy (nano SECCM).

SICMシステムを開発した。

③ nanoSECCMでは、局所形状とリチウムイオンの脱挿入の同時イメージングを行った。

2. 実験

2.1 走査型イオンコンダクタンス顕微鏡 (SICM)

2.1.1 電気化学セル

ナノピペットは、ポリシリケートガラスキャピラリー(外径1.0 mm, 内径0.58 mm Harvard Apparatus 30-0020)を CO_2 レーザープレー(Sutter P-2000)により加熱しながら伸ばして作製した。開口径100 nm程度のナノピペット²内に Ag/AgCl 線を挿入後、電解液(0.1 mol/L KCl)を充填し、このプローブをイメージングに用いた。

Figure 1に示すようにナノピペットに挿入された Ag/AgCl 線とセル内に Ag/AgCl 電極を配置した。ナノピペット外の Ag/AgCl 電極に対してナノピペット内の Ag/AgCl 線に0.2 Vの電位を印加し、SICMの測定を行った。SICMの形状イメージ試料としては、ピッチ幅2 μm NanoCulture®Plate (JSR Life Sciences NCP-L-MH), ITO電極上に重合させた導電性特性を有するPEDOT(poly(3,4-ethylenedioxythiophene))電解重合膜、ヒト扁平上皮癌細胞(A431)を選定した。

PEDOT電解重合膜の重合条件を次に記す。作用極: ITO電極, 対極: Pt, 参照極: Ag/AgNO_3 , モノマー: 0.1 mol/L EDOT(3,4-ethylenedioxythiophene), 支持電解質: 0.1 mol/L (TEA(triethanolamine)) ClO_4 , 溶媒: アセトニトリル, 電流密度: 1 mA/cm^2 , 電解時間: 5分。

2.1.2 装置構成

SICMの装置構成をFig. 3に示す。高速応答で微小電流測定及び電位制御を行うSICM-IVコンバータ(北斗電工製), ナノメートルレベルでナノピペットのアプローチを行うZ軸ピエゾステージ(ナノコントロール ストローク: 20 μm), XY方向に試料を走査するXY軸ピエゾステージ(ナノコントロール ストローク: 30 μm), 粗動でナノピペットの位置制御を行うZ軸ステッピングモータ(神津精機XA10F-RI-R: 移動範囲 ± 12.5 mm)から構成されている。

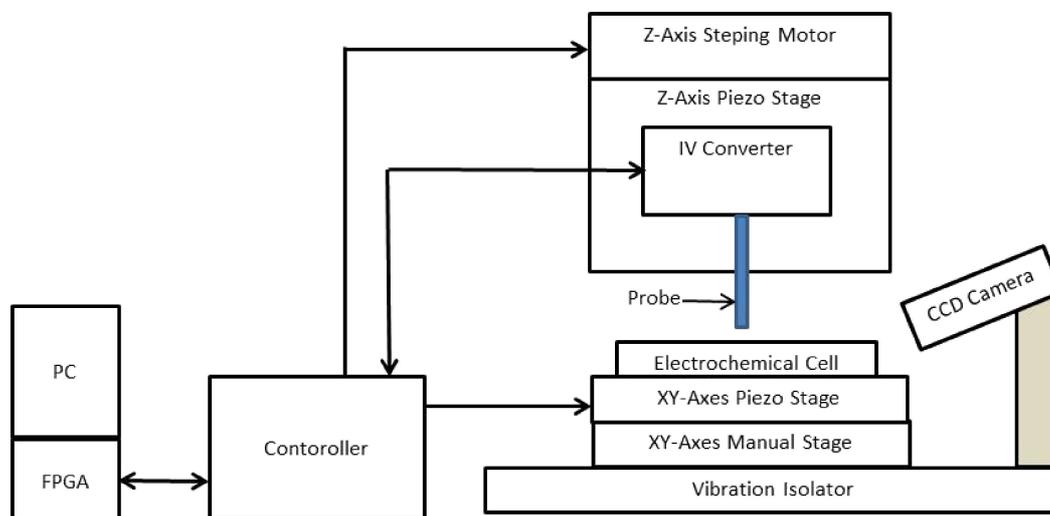


Figure 3. (Color online) Schematic view of scanning ion conductance microscopy.

IV コンバータ、ピエゾステージ及びステッピングモータの制御、プローブのフィードバック制御、データ収集は、FPGA (field programmable gate array) ボード (National Instruments NI-7841) を搭載したパソコン (エプソン AT992E) により行った。除振台 (明立精機 AYN-1007K4) の上に、SICM を収納したシールドケース (北斗電工 HS-103) を設置した。

2.1.3 ナノピペットのアプローチと走査

Z 軸ステッピングモータの稼働面に Z 軸ピエゾステージを固定することにより、ステッピングモータとピエゾステージの同時稼働を可能とした。ナノピペットのアプローチを次に記す^{2,20}。(i) Z 軸ステッピングモータを用いて、ナノピペットを試料近傍に近接させる。(ii) イオン電流が 0.5–1% の減少を観測後、Z 軸ピエゾステージによりナノピペットを上昇させ、試料の近接によるイオン電流の減少が起らない位置まで戻す。(iii) 20 nm/ms の速度で、ナノピペットを試料へアプローチし、イオン電流の減少が 0.5–1% に達した地点の Z 座標を記録する。(iv) ナノピペットを任意の高さまで引き上げ、X 方向へピエゾステージにより試料を 230 nm 移動させる。そのときの移動速度は、39 $\mu\text{m/s}$ となる。測定点ごとに (i)–(iii) を繰り返すことで、非接触で、試料の形状イメージを得ることができる。

2.2 走査型電気化学イオンコンダクタンス顕微鏡 (SECM-SICM)

2.2.1 電気化学セル及び装置構成

θ 型クオートピペットの片方を SECM 測定用のカーボンナノ電極、もう一方を SICM 測定用のナノピペットとした複合ナノプローブ (ダブルバレル型ナノプローブ) を SECM-SICM に用いた。複合ナノプローブの作製法を記す²。(i) θ 型クオートガラス管 (外径 1.2 mm, 内径 0.9 mm, SUTTER QT120-90-7.5) を CO₂ レーザープレーにより細尖化し、 θ 型クオートピペットを作製した。(ii) θ 型クオートピペットの片側に、ブタンガスを注入しながら先端部を加熱し、焼成カーボンを形成後、Ag 線を挿入し焼成カーボンとの導通を確保したカーボンナノ電極を作製した。このプローブを SECM の電気化学イメージングに用いた。(iii) もう一方のナノピペット内に Ag/AgCl 線を挿入後、電解液を充填し、このナノピペットを形状イメージングに用いた。

SECM の測定では、電解液にメディエータとして、フェロセンメタノール (FMA) (Aldrich) が 1.0 mmol/L となるように調整した。セル内に複合ナノプローブと Ag/AgCl 電極を配置した。Ag/AgCl 電極に対してカーボンナノ電極に 0.5 V vs. Ag/AgCl の電位を印加して SECM の測定を、ナノピペット外の Ag/AgCl 電極に対してナノピペット内の Ag/AgCl 線に 0.2 V vs. Ag/AgCl を印加し、SICM の測定を同時に行った。

SECM-SICM の試料としては、Dropsens 製ピッチ幅 10 μm Au 櫛形電極 (材質: ガラス), アルミダイカスト 12 (ADC12) (Al, Cu, Si, Mg 等を含む), Hela 細胞を選定した。

SECM-SICM の装置構成では、Fig. 3 の装置構成に SECM-IV コンバータを付加した。

2.2.2 複合ナノプローブのアプローチと走査

SECM は試料表面の電気化学特性を評価できる測定法である。SECM の解像度は、プローブの電極径と電極-試

料間距離に依存する。SECM では、微小電極直下の試料部位の電気化学活性種 (導電性、絶縁性) によりプローブ電流が増減するため、電極-試料間の距離制御は困難である。一方、SICM から得られるイオン電流からナノピペットと試料との正確な位置情報が得られる。そこで、「2.1.3 ナノピペットのアプローチと走査」で記したナノピペットのイオン電流の減少に基づくアプローチ法で複合ナノプローブを試料に最接近させる。その後、カーボンナノ電極により、電気化学測定を行う。この距離制御技術を基に、複合ナノプローブを XY 方向に走査することで、試料の電気化学イメージと形状イメージを同時に得ることができる。

2.3 ナノ電気化学セル顕微鏡 (nanoSECCM)

2.3.1 電気化学セル及び装置構成

nanoSECCM のプローブであるナノピペットは、SICM と同じ方法で作製した。開口径 100 nm 程度のナノピペット内に Ag/AgCl 線を挿入後、電解液 (3 mol/L LiCl) を充填し、このナノピペットを nanoSECCM による局所的な電池材料表面の充放電特性の評価に用いた²⁹。

Figure 2 に示すように、ナノピペットを試料の LiFePO₄ 合剤電極²⁹ と接触させて形成したメニスカスを電気化学セルとして利用した。ナノピペット内の Ag/AgCl 電極に対して LiFePO₄ 合剤電極に 0.65 V vs. Ag/AgCl を印加するとメニスカスを形成している電解液 (3 mol/L LiCl) から Li イオンを LiFePO₄ 合剤電極へ挿入することができる。このことにより、nanoSECCM による電極材料表面での充放電特性と形状イメージを同時に得ることができる。

nanoSECCM の装置構成では、Fig. 3 の装置構成の IV コンバータの代替としてパッチクランプ用の電流増幅器 (Axon Instruments MultiClamp700B) を用いた。

2.3.2 ナノピペットのアプローチ

ナノピペット内の Ag/AgCl 電極に対して 0.65 V の電圧を印加した LiFePO₄ 合剤電極に 20 nm/ms でナノピペットを近接させた。Figure 2 に示すように、LiFePO₄ 合剤電極とナノピペットのメニスカスを介した接触により観測される容量電流をトリガースIGNALとして、ナノピペットのアプローチを停止した。この地点の Z 座標を記録する。容量電流が収まるまで待った後に、リチウムイオンの挿入に起因する電流を測定した²⁹。次に、ナノピペットを 20 nm/ms, 4 μm 引き上げ、次の測定点 (パラメータとして指定した X または Y 方向の移動距離) における電流を同様に計測した。このアルゴリズムに基づき、ナノピペットを XY 方向に走査することで、LiFePO₄ 合剤電極の局所的な酸化電流イメージを得ることができる。また、接触により観測される容量電流をトリガースIGNALとして、ナノピペットのアプローチが停止した Z 座標を記録することにより、形状イメージを同時に得ることができる。

3. 結果及び考察

3.1 走査型イオンコンダクタンス顕微鏡 (SICM)

Au スパッタ 1 分, 高速真空モード, 加速電圧 500 kV の条件で、日本電子製 JSM-6510LV により、撮影したピッチ幅 2 μm NanoCulture[®]Plate の SEM 写真を Fig. 4(a) に示す。電解液 0.1 mol/L KCl, ナノピペット内の Ag/AgCl 電極に

0.2 V vs. Ag/AgClを印加した条件での、走査範囲 $5\ \mu\text{m} \times 5\ \mu\text{m}$ 及び $2\ \mu\text{m} \times 2\ \mu\text{m}$ に拡大した SICM による NanoCulture[®]Plate の形状イメージを Figs. 4(b), (c) に示す。SEM による写真とほぼ同一のピッチ幅 $2\ \mu\text{m}$ マイクロハンカムの形状の正確なイメージ画像を SICM により得ることができた。

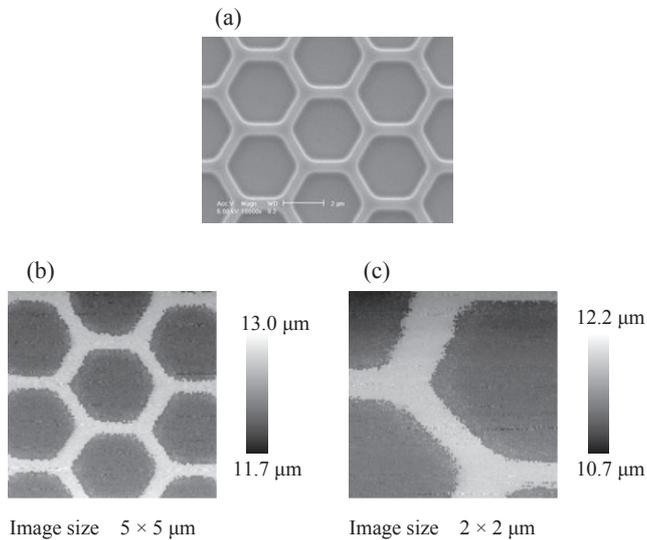


Figure 4. Scanning electron micrograph (a), SICM topography image (b), (c) of NanoCulture[®]Plate with hexagonal chambers with $2\ \mu\text{m}$ -width banks. Image sizes are $5\ \mu\text{m} \times 5\ \mu\text{m}$ (b), $2\ \mu\text{m} \times 2\ \mu\text{m}$ (c). SICM electrode was held at 0.2 V versus a reference Ag/AgCl electrode in 0.1 mol/L KCl.

今回開発した SICM により、走査範囲 $30\ \mu\text{m} \times 30\ \mu\text{m}$, $10\ \mu\text{m} \times 10\ \mu\text{m}$, $5\ \mu\text{m} \times 5\ \mu\text{m}$ の順次拡大した PEDOT 電解重合膜の形状イメージを Fig. 5 に示す。SICM により、測定溶液中で試料に非接触で PEDOT 電解重合膜の形状を評価することが可能であった。

また、ヒト扁平上皮癌細胞 (A431) の光学顕微鏡写真を Fig. 6(a) に、SICM による走査範囲 $30\ \mu\text{m} \times 30\ \mu\text{m}$ の A431 細胞の形状イメージを Fig. 6(b) に示す。光学顕微鏡写真と比較して、SICM の方が A431 細胞の 3 次元形状を高い精度で明確にイメージングすることができた。

3.2 走査型電気化学イオンコンダクタンス顕微鏡 (SECM-SICM)

SECM-SICM で用いた複合ナノプローブのデジタル写真及び SEM 写真 (日本電子製 Neoscope JCM-6000) を Fig. 7 に示す。Au スパッタ 1 分、高速真空モード、加速電圧 15 kV の条件で、複合ナノプローブの SEM 写真を撮影した。複合ナノプローブの外径はほぼ $200\ \text{nm}$ であった (Fig. 7(b))。

SECM-SICM の基本性能をピッチ幅 $10\ \mu\text{m}$ の Au 櫛形電極で検証した。複合ナノプローブのナノピペット内の Ag/AgCl 電極とセル内の Ag/AgCl 電極間に 0.2 V vs. Ag/AgCl を印加して得た SICM による Au 櫛形電極の形状イメージを Fig. 8(a) に、カーボンナノ電極に 0.5 V vs. Ag/AgCl を印加して得た SECM の電気化学イメージを Fig. 8(b) に示す。メディエータは $1.0\ \text{mmol/L}$ FMA を用いた。導電体の Au 上のメディエータの酸化還元によるプローブ電流の増加及び絶縁性のガラス基板上的プローブ電

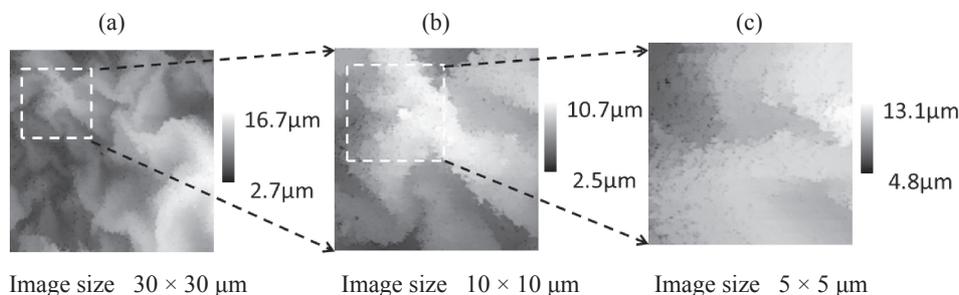


Figure 5. SICM topography images of electrodeposited PEDOT (poly(3,4-ethylenedioxythiophene)) film in 0.1 mol/L KCl. Image sizes are $30\ \mu\text{m} \times 30\ \mu\text{m}$ (a), $10\ \mu\text{m} \times 10\ \mu\text{m}$ (b), $5\ \mu\text{m} \times 5\ \mu\text{m}$ (c). SICM electrode was held at 0.2 V versus a reference Ag/AgCl electrode.

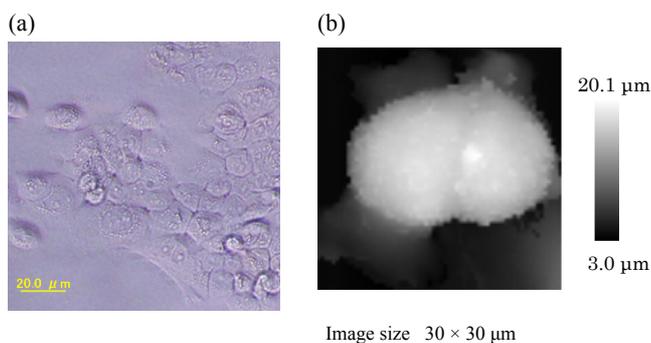


Figure 6. (Color online) (a) Photograph, SICM topography images of A431 cell in PBS. Scan ranges are $20\ \mu\text{m} \times 20\ \mu\text{m}$ (b), SICM electrode was held at 0.2 V versus a reference Ag/AgCl electrode.

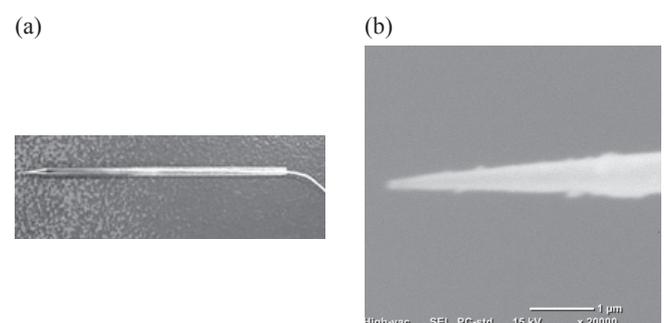


Figure 7. SECM-SICM probe. Digital photography (a), scanning electron micrograph (b).

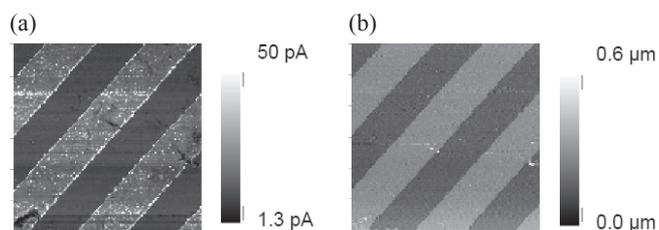


Figure 8. Micro-band electrodes with 10 μm -width line and space in topography (a), electrochemical image (b) in 1.0 mmol/L FcCH_2OH + 0.1 mol/L KCl. Scan ranges are 30 μm \times 30 μm . The SECM and SICM probes were held at 0.5 and 0.2 V versus a reference Ag/AgCl electrode.

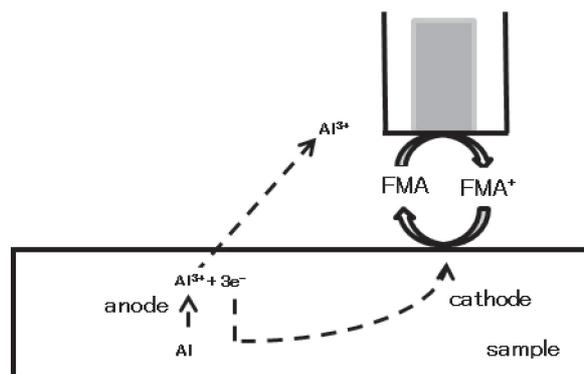


Figure 9. Schematic view of corrosion reaction.

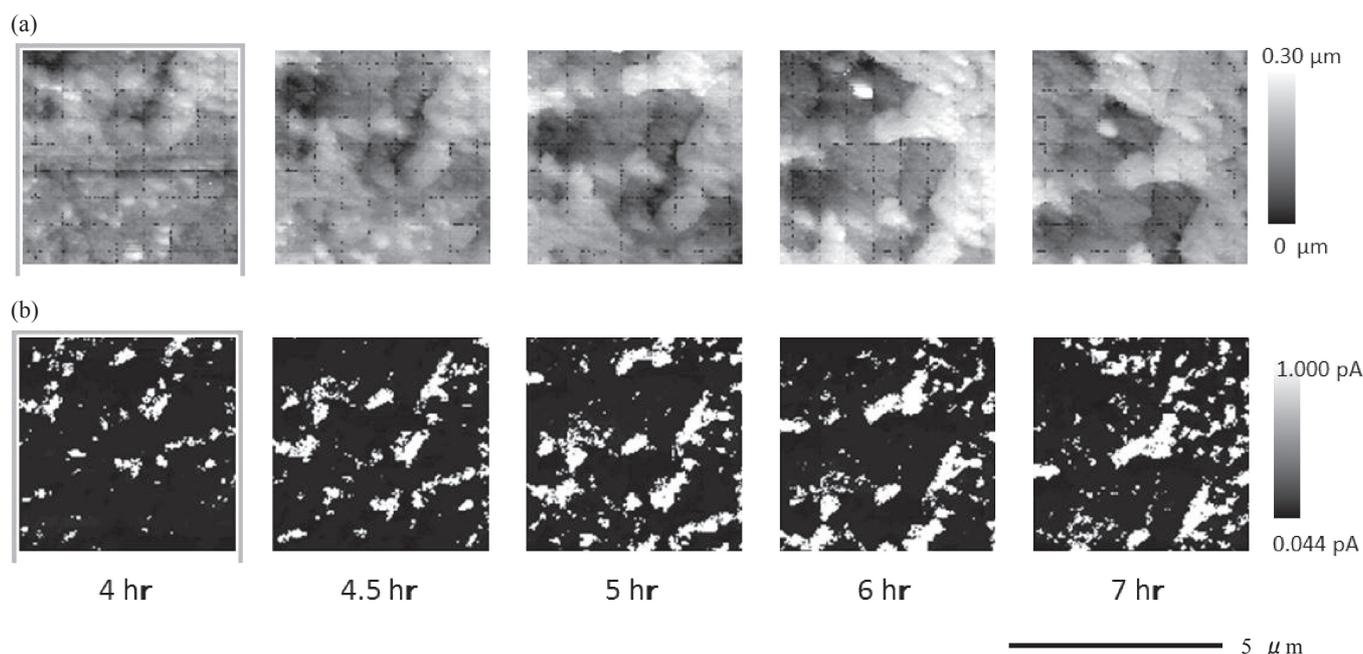


Figure 10. Aluminum die gusto in topography (a), electrochemical (b) image after dipping in 1.0 mmol/L FMA+2.67% AlCl_3 . Scan ranges are 5 μm \times 5 μm . The SECM and SICM probes were held at 0.5 and 0.2 V versus a reference Ag/AgCl electrode.

流の減少が観測された。よって、作製したカーボンナノ電極がSECMプローブとして機能していることが明らかとなった。また、SECM-SICMにより、試料の電気化学イメージと形状イメージを同時に得ることを確認できた。

SECM-SICMにより、アルミダイカスト (ADC12) の腐食特性を検証した。腐食反応の概要を Fig. 9 に示す。ADC12 表面に局部腐食が生じると、アノードサイトでは $\text{Al} \rightarrow \text{Al}^{3+} + 3\text{e}^-$ の反応により Al が溶解する。電子は、周辺のカソードサイトに移動し、 $\text{O}_2 + 2\text{H}_2\text{O} + 4\text{e}^- \rightarrow 4\text{OH}^-$ の反応により、酸素が還元される。メディエータの FMA が測定液に含まれている場合、複合ナノプローブのカーボンナノ電極では、 $\text{FMA} \rightarrow \text{FMA}^+ + \text{e}^-$ の酸化反応が、カソードサイトでは、 $\text{FMA}^+ + \text{e}^- \rightarrow \text{FMA}$ の還元反応が起きフィードバックにより、プローブ電流が増加する。よって、ADC12 上のカソード反応活性を検出できる。ADC12 を 1.0 mmol/L FMA を含む 2.67% AlCl_3 測定液に 4, 4.5, 5, 6, 7 時間浸漬後の走査範囲 5 \times 5 μm の SICM による形状イメージを Fig. 10(a) に、SECM による電気化学イメージを Fig. 10(b) に示す。4 時間と 7 時間浸漬後の

ADC12 の SICM の形状イメージ (Fig. 10(a)) を比較すると、アノードサイトの $\text{Al} \rightarrow \text{Al}^{3+} + 3\text{e}^-$ の溶解に伴い凹部が増加した。一方、4 時間と 7 時間浸漬後の ADC12 の SECM の電気化学イメージ (Fig. 10(b)) を比較すると、カソードサイトの形状イメージはほとんど変化しなかったが、カソードサイトでは、 $\text{FMA}^+ + \text{e}^- \rightarrow \text{FMA}$ の還元反応と共役して起きる $\text{FMA} \rightarrow \text{FMA}^+ + \text{e}^-$ の酸化反応によるプローブ電流の増加を観測することができた。SECM-SICM によって、ADC12 のサブミクロンオーダーのカソードサイトの検出が可能であった。

4% パラホルムアルデヒドで固定した HeLa 細胞の SICM による形状イメージを Fig. 11(a) に、SECM による電気化学イメージを Fig. 11(b) に示す。メディエータとして用いた疎水性の FMA は細胞膜を透過可能であり、電極が細胞表面上にあるとき、基板よりもブロッキング効果が弱い。そのため HeLa 細胞上では基板よりも高いプローブ電流となり、SECM-SICM により、HeLa 細胞の形状と電気化学イメージ画像を同時に得ることができた。

以上の結果より、複合ナノプローブのナノピペット (SICM) から得られるイオン電流を用いて、ナノピペット

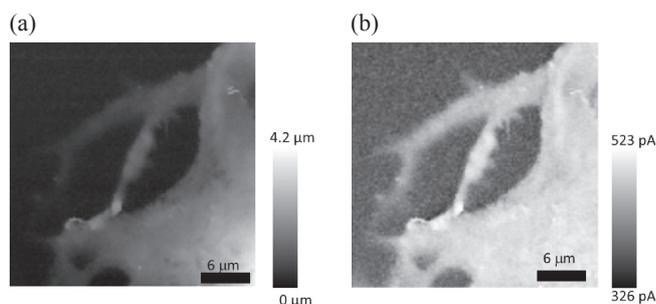


Figure 11. HeLa cell in topography (a), electrochemical (b) image in 1.0 mmol/L FcCH_2OH + PBS. Scan ranges are $30\ \mu\text{m} \times 30\ \mu\text{m}$. The SECM and SICM probes were held at 0.5 and 0.2 V versus a reference Ag/AgCl electrode.

と試料間の距離制御を行うと同時に試料の形状イメージを得ることができた。また、複合ナノプローブのカーボンナノ電極 (SECM) により得られるプローブ電流により、電気化学イメージも同時に得ることができた。

3.3 ナノ電気化学セル顕微鏡 (nanoSECCM)

リチウムイオン二次電池の高性能化 (高速充放電特性と長期のサイクル安定性) を実現する上で、エネルギー密度が高くかつ反応性が均一な電極を作製する必要がある。そのための知見として、ナノメートルスケールでリチウムイオンの脱離・挿入に起因する電流応答を直接に評価する方法が求められている。nanoSECCMは、ナノピペットの先端と試料表面で形成される微小電気化学セル構造を用いることで、局所的な電池の反応性を評価することが可能である。また、ナノピペットを走査することで得られる電流応答をマッピングすることで電極表面のリチウムイオンの脱離・挿入に関する電流応答分布イメージを取得できる。このイメージング技術を用いることで、電極表面の充放電反応の均一性を評価できることが期待されている。

電極表面の電流分布イメージング例として、リチウムイオン二次電池の正極として用いられる LiFePO_4 合剤電極の評価を行った。合剤電極は、Alや銅箔などの集電体に、電極活性物質 (LiFePO_4)、活性物質を固定するためのバインダー、電子伝導性を補助する導電助剤が混合されたスラリーを塗布し、乾燥させることで作製する。nanoSECCMで取得した LiFePO_4 合剤電極の形状 (a) と電流応答 (b) のイメージを Fig. 12 に示す。形状イメージ (a) から、試料表面に粒子の点在が確認された。この結果は、過去の文献²⁹と一致しており、観測された粒子は LiFePO_4 の二次粒子であり、その周りを導電助剤とバインダーが覆っているものと考えられる。また、nanoSECCMの電流応答像は、 LiFePO_4 からリチウムイオンが脱離する電位 (0.65 V vs. Ag/AgCl) を印加し、得られた電流応答を画像化したものであり、電流応答が高い領域はリチウムイオンの脱離がおり、そのイオン伝導の経路が集電体まで確保されていることを示唆している。形状イメージ (a) の右下部分でリチウムイオンの脱離応答に起因する電流が捉えていることから、この粒子は試料表面でリチウムイオンの脱離が起り、電流値が観測されている。一方、中央部の形状イメージから確認される粒子は、電流応答をほぼ示していないことから、電極内部に存在している二次粒子もしくは、伝導経路

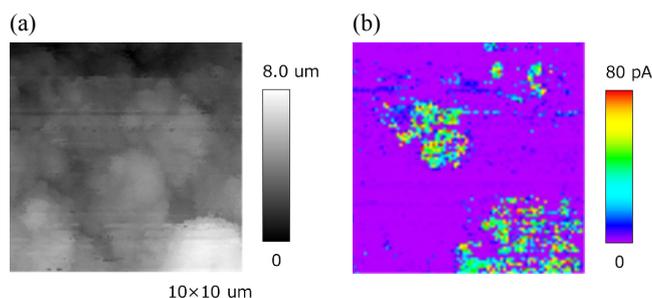


Figure 12. (Color online) Topography and current activity of a LiFePO_4 electrode. Simultaneous SECCM topography (a), current (b) images. Scan ranges are $10\ \mu\text{m} \times 10\ \mu\text{m}$. The substrate potential was +0.65 V versus Ag/AgCl quasi-reference counter electrode.

が遮断された二次粒子を形状として観測している、イオンの脱離反応は起こっているものの伝導経路が内部抵抗により低い電流応答として観測されているなどの要因が考えられる。このように、nanoSECCMを用いることで、電極表面での活物質反応の不均一性を可視化が可能となり、均一な応答を示す電極試料の評価につながる事が期待できる。

4. まとめ

本論文では、以下に開発した3機種の超高解像度走査型電気化学顕微鏡を検証した結果をまとめる。

- 1) 走査型イオンコンダクタンス顕微鏡 (SICM) を用いて、次に示す試料の高解像の形状イメージングが可能であった。(i) ピッチ幅 $2\ \mu\text{m}$ NanoCulture[®]Plate の $1\ \mu\text{m}$ 程度のハニカム格子、(ii) 測定溶液中で試料に非接触条件での導電性を有する PEDOT (poly(3,4-ethylenedioxythiophene)) 電解重合膜、(iii) ヒト扁平上皮癌細胞 (A431)。
- 2) 走査型電気化学イオンコンダクタンス顕微鏡 (SECM-SICM) を用いて、次に示す試料の SECM のカーボンナノ電極と SICM 測定用のナノピペットから構成される複合ナノプローブにより試料の電気化学イメージングと形状イメージングが可能であった。(i) ピッチ幅 $10\ \mu\text{m}$ の Au 櫛形電極、(ii) アルミダイカストの浸漬時間の経過とともに凹部とプローブ電流が増加する腐食の進行、及びアルミダイカストのサブミクロンオーダーのカソードサイトの検出、(iii) メディエータとして用いた疎水性フェロセンメタノールの HeLa 細胞の細胞膜透過性及び形状。
- 3) ナノ電気化学セル顕微鏡 (nanoSECCM) を用いて、 LiFePO_4 合剤電極の形状イメージとリチウムイオンの挿入に伴う酸化電流イメージが同時に得られること。

謝辞

本開発成果は、平成 24 年度より科学技術振興機構 (JST) 先端計測分析技術・機器開発プログラム (平成 27 年度より日本医療研究開発機構 (AMED) が実施する医療分野研究成果展開事業 先端計測分析技術・機器開発プログラムに移行)、先端的低炭素化技術開発 ALCA: 蓄電デバイス、JST さきがけ、及び科学研究費補助金 (16H06042, 15H03542, 16H00885, 15H05422, 15K13263, 16H00885)、の一環として推進されました。

文献

- G. Binning and H. Rohrer, *Helv. Phys. Acta*, **55**, 726 (1982).
- Y. Takahashi, Y. Hirano, T. Yasukawa, H. Shiku, H. Yamada, and T. Matsue, *Langmuir*, **22**, 10299 (2006).
- H. Shiku, T. Shiraishi, H. Ohya, T. Matsue, H. Abe, H. Hoshi, and M. Kobayashi, *Anal. Chem.*, **73**, 3751 (2001).
- S. Aoyagi, Y. Utsumi, M. Matsudaira, H. Yamada, T. Kachi, H. Shiku, H. Abe, H. Hoshi, and T. Matsue, *Bunseki Kagaku*, **55**, 847 (2006).
- B. Liu and A. J. Bard, *J. Phys. Chem.*, **109**, 5193 (2005).
- K. Fushimi and M. Seo, *Zairyo-to-Kankyo*, **46**, 797 (1997).
- S. Aoki, T. Taniguchi, and J. Sakai, *Zairyo-to-Kankyo*, **64**, 414 (2015).
- Y. Takahashi, H. Shiku, and T. Matsue, *Electrochemistry*, **80**, 271 (2012).
- J. L. Conyers and H. S. White, *Anal. Chem.*, **72**, 4441 (2000).
- P. Sun, Z. Zhang, J. Guo, and Y. Shao, *Anal. Chem.*, **73**, 5346 (2001).
- H. Shin, P. J. Hesketh, B. Mizaikoff, and C. Kranz, *Anal. Chem.*, **79**, 4769 (2007).
- K. Maruyama, H. Ohkawa, S. Ogawa, A. Ueda, O. Niwa, and K. Suzuki, *Anal. Chem.*, **78**, 1904 (2006).
- D. Oyamatsu, Y. Hirano, N. Kanaya, Y. Mase, M. Nishizawa, and T. Matsue, *Bioelectrochem.*, **60**, 115 (2003).
- H. Yamada, M. Ogata, and T. Koike, *Langmuir*, **22**, 7923 (2006).
- Y. Takahashi, T. Miyamoto, H. Shiku, R. Asano, T. Yasukawa, I. Kumagai, and T. Matsue, *Anal. Chem.*, **81**, 2785 (2009).
- R. T. Kurulugama, D. O. Wipf, S. A. Takacs, S. Pongmayteegul, P. A. Garris, and J. E. Baur, *Anal. Chem.*, **77**, 1111 (2005).
- G. Baril, G. Galicia, C. Deslouis, N. Pebere, B. Tribollet, and V. Vivier, *J. Electrochem. Soc.*, **154**, C108 (2007).
- P. K. Hansma, B. Drake, O. Marti, S. A. Gould, and C. B. Prater, *Science*, **243**, 641 (1989).
- Y. E. Korchev, C. L. Bashford, M. Milovanovic, I. Vodyanoy, and M. J. Lab, *Biophys. J.*, **73**, 653 (1997).
- H. Ida, Y. Takahashi, H. Shiku, and T. Matsue, *Surf. Sci.*, **36**, 313 (2015).
- P. Novak, C. Li, A. I. Shevchuk, R. Stepanyan, M. Caldwell, S. Hughes, T. G. Smart, J. Gorelik, V. P. Ostanin, M. J. Lab, G. W. J. Moss, G. I. Frolenkov, D. Klenerman, and Y. E. Korchev, *Nat. Methods*, **6**, 279 (2009).
- Y. Takahashi, Y. Murakami, K. Nagamine, H. Shiku, S. Aoyagi, T. Yasukawa, I. Kumagai, M. Kanzaki, and T. Matsue, *PCCP*, **12**, 10012 (2010).
- Y. Takahashi, K. Ito, X. W. Wang, Y. Matsumae, H. Komaki, A. Kumatani, K. Ino, H. Shiku, and T. Matsue, *Electrochemistry*, **82**, 331 (2014).
- J. Gorelik, A. Shevchuk, M. Ramalho, M. Elliott, C. Lei, C. F. Higgins, M. J. Lab, D. Klenerman, N. Krauzewicz, and Y. Korchev, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **99**, 16018 (2002).
- Y. Takahashi, A. Kumatani, H. Inomata, H. Shiku, and T. Matsue, *Energy Device*, **2**, 66 (2015).
- C. G. Williams, M. A. Edwards, A. L. Colley, J. V. Macpherson, and P. R. Unwin, *Anal. Chem.*, **81**, 2486 (2009).
- A. G. Guell, N. Ebejer, M. E. Snowden, J. V. Macpherson, and P. R. Unwin, *J. Anal. Chem. Soc.*, **134**, 7258 (2012).
- S. C. S. Lai, P. V. Dudin, J. V. Macpherson, and P. R. Unwin, *J. Anal. Chem. Soc.*, **133**, 10744 (2011).
- Y. Takahashi, A. Kumatani, H. Munakata, H. Inomata, K. Ito, K. Ino, H. Shiku, P. R. Unwin, Y. Korchev, Y. E. Korchev, K. Kanamura, and T. Matsue, *Nat. Commun.*, **5**, 331 (2014).