

令和 3 年 6 月 10 日現在

機関番号：12101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K05163

研究課題名(和文)バイポーラー電極で接続する2マイクロ流路型センサー

研究課題名(英文)Bipolar-electrode bridging 2-microchannels sensor

研究代表者

金 幸夫 (KIM, Haeng-Boo)

茨城大学・理工学研究科(理学野)・教授

研究者番号：40186367

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：2本の独立したマイクロ流路を電極で接続した2流路バイポーラー電極センサーを提案し、そのセンサー特性を検討することを目的とした。2本の流路を、それぞれ試料溶液を流す試料流路、観測信号生成反応を起こす検出流路とすることで、信号生成物の空間的分離と蓄積が可能となり、高感度化が期待される。本研究では、上記アイデアを、置換ストリッピングボルタンメトリおよびその蛍光検出で実証した。センサーの応答特性を明らかにし、さらに高感度化へ向けた設計指針に基礎的情報を得た。

研究成果の学術的意義や社会的意義

金属イオンの高感度検出は、環境分析のみならず、化学分析の重要分野である。本研究では、省スペース、試薬低減等に優れたマイクロ流路と、電極反応部位を空間的に分離できるバイポーラー電極、両者の特長を組み合わせた新規センサーを提案した。これにより、新たな高感度電気化学センサーを提案するとともに、蛍光検出と組み合わせにより一層の高感度化を図った。本研究成果をもとにセンサーの最適化を進めれば、実験室だけでなくフィールドにおいても有用なセンサーとなることが期待できる。

研究成果の概要(英文)：We proposed a novel two-channel type bipolar electrode sensor, which consists of two independent microchannels connected by a bipolar electrode. The bipolar electrode is able to spatially separate the redox reaction sites. Therefore, combination of both advantages of microchannels and bipolar electrode is attractive for design of electrochemical / fluorometric microsensor. In this study, the two-channel type bipolar sensor was applied to substitutional stripping voltammetry by amperometric and fluorometric detections. The response characteristics of the sensor were clarified, and fundamental information for optimization toward higher sensitivity was obtained.

研究分野：化学

キーワード：マイクロ流路 バイポーラー電極 顕微分光 電気化学検出

1. 研究開始当初の背景

バイポーラー電極 (BPE) を用いると、直接、電源と接続されていなくても、BPE 電極両端で、共役した酸化・還元反応を起こすことができる (図 1)。電解合成や電池などの分野だけでなく、近年は電気化学センサーへの応用に展開されている。BPE では、酸化反応サイトと還元反応サイトを空間的に分離できることから、分析対象の検出反応と観測信号生成反応を分離でき、これによりストリッピングボルタンメトリだけでなく、電気化学センサーの電気化学応答の高感度化が報告されてきた。

本研究では、反応空間および電極配置を自在にデザインできるマイクロ流路に BPE を組み込むことで、高感度な蛍光検出型の BPE センサーを着想した。

2. 研究の目的

2 本の独立したマイクロ流路を BPE で接続した、図 2 に示すような 2 流路 BPE センサーを作製し、そのセンサ特性を検討することを目的とする。流路の一方を試料溶液を流す試料流路、もう一方を観測信号生成反応を起こす検出流路とし、BPE による共役酸化・還元反応を空間を分離して行う。試料流路は溶液をフローし試料を連続的に供給するのに対し、検出流路は静止することにより還元生成物を蓄積し高感度化を図る。検出流路に Cu^{2+} 溶液などを用いれば置換型 SV が、蛍光物質を用いれば蛍光検出ができ、汎用性かつ高感度化が見込まれる。本研究は、上記アイデアの実証、2 流路 BPE の応答特性の解明、ならびに高感度化へ向けた 2 流路 BPE センサーの設計指針を検討する。

3. 研究の方法

電極構造をガラス基板に、リフトオフ法により作製する。これにポリジメチルシロキサンで作製した流路基板を貼り合わせ、図 2 に示すような 2 流路 BPE センサーを作製した。BPE のほかに、それぞれの流路に、駆動電位印加用および電気化学測定用に 3 電極を配置した。

電流応答は、試料流路にフェロセンメタノール水溶液、検出流路にフェリシアン化カリウム水溶液を導入し、電位を印加したときの電流を測定した。ストリッピングボルタンメトリは、検出流路を Cu^{2+} 溶液に変え、一定時間還元析出させた後、再溶解したときの電流を測定した。蛍光検出は、検出流路に、還元すると蛍光を発するレサズリンを導入し、その蛍光強度変化を顕微蛍光システムにより測定した。また、信号強度の流路構造依存性を、有限要素法を用いた数値計算と比較した。

4. 研究成果

(1) 電気化学応答特性

2 流路 BPE を用いたときの典型的な電流応答曲線を図 3 に示す。電位印加により試料の酸化による電流が観測され、時間とともに減少していく。試料流路の流速を高くすると、電極への供給量が増加するため電流値は大きくなるが、電流の減少も速くなる。これは、検出側が溶液静止状態のため、検出側電極近傍の共役的に還元されるべき物質が有限であることによる。実際、電流値の積算で得られる電気量は流速によらず一定で、この値は、検出側で還元された物質質量に対応する。一方、検出側もフローした場合には、静止条件下で

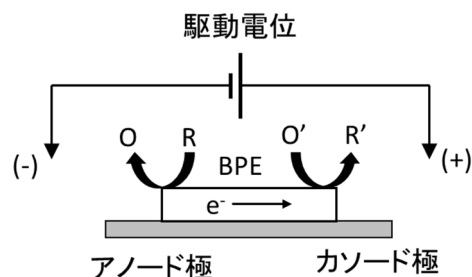


図 1. 溶液中に設置されたバイポーラー電極 (BPE) の電気化学応答の概念図 (O: 酸化体、R: 還元体)

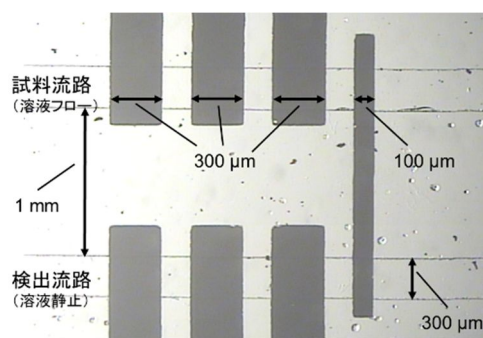


図 2. 2 流路に配した BPE 部の拡大写真。BPE を流れる電流測定の際に、検出流路では蛍光測定を行う。

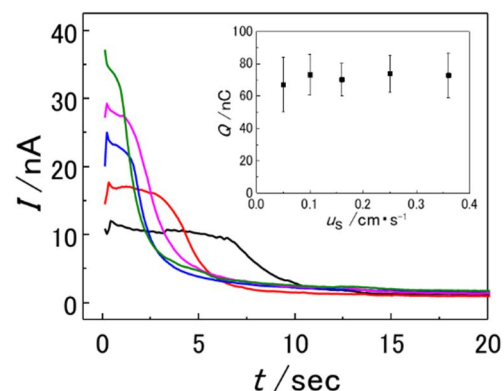


図 3. 2 流路 BPE における電流応答と電気量の試料流路 (フェロセンメタノール) の流速依存性 (検出流路 (フェリシアン化カリウム) は静止)。

検出側もフローした場合には、静止条件下で

は過渡的な応答となったことに対し、定常電流となった。その電流値は、検出流路の流速には依存せず、試料流路の流速に比例した。以上のことから、2 流路 BPE では、検出側の還元しうる物質に電流値が規定され、したがって、濃縮率（信号の増幅率）を支配することが明らかとなった。

流路サイズおよび電極幅依存性に関しては、通常の電気化学応答が示す電極面積依存性を示し、電極面積の増加に比例して電流値も大きくなった。また、流路高さについては、流路が高くなるとともに、試料側では酸化されずフローする量が増えるため捕捉率は低下する。しかしながら、検出側の体積が増加するため、還元される量が増えるため電流量としては増加した。そのため、流速に応じた最適な高さが存在することがわかった。本研究で検討した 20 ~ 50 μm 、試料流速 0.2 ~ 0.5 cm s^{-1} の条件下では、流路高さが 35 μm のとき最大値を与えた。これらの結果は、定性的には数値計算の結果と一致したが、最適化のためには、さらなる検討が必要と考えている。

(2) 置換ストリッピングボルタンメトリへの応用

ストリッピングボルタンメトリでは、溶液中の金属イオンなどを還元し、一定時間電極に析出させ濃縮する。その後、酸化・溶出するときの電流を測定し定量する。濃縮過程が入るため高感度な測定となるが、金属イオンなど試料が限定される。置換ストリッピングボルタンメトリでは、試料とは別の物質を電極上に析出・濃縮する。BPE 電極を用いると、酸化サイトと還元サイトを分離できるため、置換ストリッピングボルタンメトリに適用できる。本研究では、両サイトを別の流路として分離するだけでなく、試料流路をフローすることで電極への供給量を増し、高感度化を図る。

試料流路にフェロセンメタノールを流し、検出側で Cu^{2+} の還元析出(5 秒)させた後、析出した Cu の酸化溶出電流を測定する置換ストリッピングボルタンメトリを行った結果を図 4 に示す。本研究で提案する 2 流路 BPE センサーで、 μM オーダーの測定が十分可能なことが実証できた。同条件で測定した通常のクロノアンペロメトリの結果と比較すると、本測定で用いた 2 流路 BPE センサーは最適化されていないにもかかわらず、5 秒の濃縮時間で、クロノアンペロメトリに比べ 15 倍増幅されたことがわかった。今後、最適化を進め検出限界の決定が必要であるが、金属イオン以外の物質に適用可能な手法と成り得ることがわかった。

(3) 蛍光検出への展開

前項では、検出流路で Cu^{2+} の還元析出・酸化溶出を行ったが、 Cu^{2+} にかわり蛍光物質を利用すると蛍光検出が可能となり高感度化がはかれる。本研究では、非発光性のレサズリンが還元されると蛍光発する性質を利用した。BPE 電極の試料流路側でフェロシアン化カリウムが酸化されると、検出側でレサズリンの還元が起こり、蛍光性のレゾルフィンが生成する。検出側流路が静止していれば、試料の酸化に伴いレゾルフィンが生成しその濃度が上昇することにより蛍光強度が増大する。

図 5 は、上記の原理を実証した結果である。BPE の検出側電極部で蛍光が観測された。この蛍光強度を画像解析・数値化し、試料濃度に対してプロットした。蛍光強度は、 μM オーダーの試料濃度に比例して大きくなり、前項の Cu^{2+} による置換ストリッピングボルタンメトリを、蛍光検出型へ展開できることを実証した。今回の実験では、一般的な蛍光顕微鏡を用いたが、今後、蛍光測定の励起光源にレーザーを用いる、高感度カメラ・検出器を用いるなどにより、電気化学検出より一層の高感度化が期待できる。

(4) 今後の展開

本研究では、BPE とマイクロ流路の特長を組み合わせた 2 流路 BPE センサーを提案した。試料溶液をフローし電極への物質供給を増やすこと、検出流路を静止し BPE 電極の検出側に共役した電気化学反応生成物を蓄積することで高感度化を図る原理を実証した。具体的には、電気

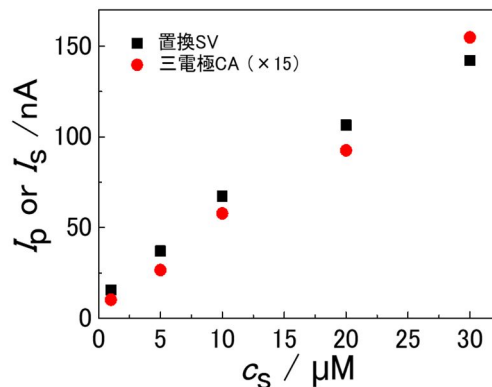


図 4. 置換ストリッピングボルタンメトリ (SV) とクロノアンペロメトリ (CA、15 倍) の比較。

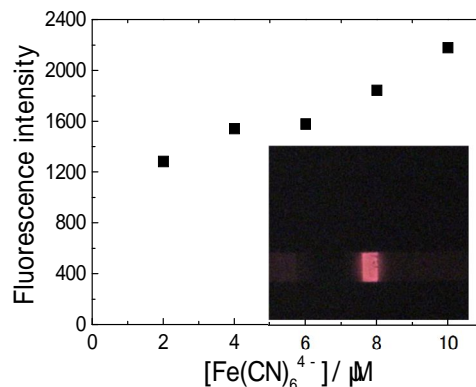


図 5. 蛍光検出による置換ストリッピングボルタンメトリ；蛍光強度の濃度依存性と電極近傍の蛍光画像。

化学検出による置換ストリッピングボルタンメトリ、ならびに蛍光検出型へ応用し、高感度化がはかれることを示した。2 流路 BPE センサーの応答特性は、流路構造（形状、幅、サイズ）や電極構造（幅、長さ）などのセンサー部の形状特性、駆動電位、試料流速、および検出物質濃度などの操作要因に決定される。これらの一部を実験的に検討するとともに、数値計算により明らかにしたが、まだ未解明の部分も残っている。特に、蛍光検出型は検出システムの高感度化が容易であるため、より一層の高感度測定が期待されることから、今後、蛍光測定システムの更新もふくめた 2 流路 BPE センサーの最適を進めることが必要である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 村上葉月、金幸夫
2. 発表標題 マイクロ流路における交流インピーダンスの流速依存性
3. 学会等名 第16回茨城地区分析技術交流会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 岡田唯登、金幸夫
2. 発表標題 低周波交流電場下における微粒子泳動挙動
3. 学会等名 第16回茨城地区分析技術交流会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 渡辺優介、金幸夫
2. 発表標題 2流路間に配置したバイポーラー電極の電気化学応答
3. 学会等名 第29回日本化学会関東支部茨城地区研究交流会
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------