

## 19p-A2-15

## クロマトグラフィーペーパー浸透溶液中金ナノ粒子のインピーダンス法による検出

## Detection of Gold Nanoparticles Absorbed in Chromatography Paper using Impedance Method

立命院理工, °堀 文貴, 岩原 昇平, 宇野 重康

Ritsumeikan Univ., °Fumitaka Hori, Shohei Iwahara, Shigeyasu Uno

E-mail: suno@fc.ritsumei.ac.jp

## 1. 導入

呈色の有無による簡易で迅速な医療診断法であるイムノクロマトグラフィーが注目され、広く臨床応用されている[1, 2]。さらにその定量化実現のために、交流インピーダンス法で溶液抵抗  $R_{sol}$  を測定し、標識粒子の存在によって値の変化があることが確認されている[3]。我々は以上をふまえて、実際に金ナノ粒子(AuNPs)標識を浸透させた場合と測定装置小型化の実現性を考え、AuNPs を浸透させたクロマトグラフィーペーパー(ChrPr)での  $R_{sol}$  の経時変化を一定周波数において測定した。本研究では、イムノクロマトグラフィーで標識として用いられる AuNPs の溶液を ChrPr 中で浸透させた場合の  $R_{sol}$  について、AuNPs の有無による違いをクロノインピーダンス法により解析した。

## 2. 実験方法

Fig. 1(a)に示すように、回路実装用プリント基板の上に、塩化ビニル(PVC)板(1.5 cm × 3.0 cm)を配置し、作用電極、対向電極にカーボンペースト、参照電極に Ag/AgCl ink を用いて電気化学測定が可能なチップに仕上げた。電極表面は凹凸のない平坦な形状にする。試薬は、AuNPs(粒径 100 nm)とリン酸緩衝液 PBS = 0.1 mM (pH = 5.0)を用いた。AuNPs 溶液を数日間冷蔵保管(3 °C)し、AuNPs を底部に沈殿させ、上澄み溶液を適量採取することで、AuNPs = 0 個/mL,  $4.0 \times 10^{10}$  個/mL の 2 種類の溶液を用意した。そして、Fig. 1(b)に示すように電極上に ChrPr(1.5 cm × 3.0 cm)を配置し、それを PVC 板(1.5 cm × 3.0 cm, 厚さ 5 mm)とクリップで上部から押さえて固定し、AuNPs 溶液を直径 4 mm の穴から 80  $\mu$ L 滴下し浸透させた後に測定した。サイクリックボルタンメトリー(CV)による電極のクリーニングと電極表面のリンスは、PBS を用いて毎回行い、PVC 板もクリップによる変形を防ぐために測定毎に新しいものに替えた。劣化を防ぐため、AuNPs 溶液は測定時を除き長時間の室温放置を避けた。実験装置は ALS/CH Instruments Electrochemical Analyzer Model 610DR を用いた。まず CV(印加電圧 0 V ~ 0.6 V, 掃引速度 0.1 V/s, 待機時間 10 s)で電極のクリーニングを行った後、ChrPr 等をセットし、交流インピーダンス法(バイアス電圧 0.6 V, 振幅 5 mV, 周波数 1 Hz ~ 100 kHz, 待機時間 10 s)で  $R_{sol}$  が現れる周波数を確認し、その周波数で固定してクロノインピーダンス測定を行った。

## 3. 結果&amp;考察

交流インピーダンス測定で、電極間の溶液インピーダンス  $Z$  とその位相の周波数依存性を表す Bode 線図を得た。その結果から、1 Hz ~ 100 Hz では電気二重層容量  $C_{dl}$ 、100 Hz ~ 10 kHz では溶液抵抗  $R_{sol}$ 、10 kHz ~ 100 kHz では測定器の配線による寄生容量がそれぞれ見えることがわかった。本研究では  $R_{sol}$  を測定するため、1 kHz 付近の  $Z$  に着目した。今回は 977 Hz の時の  $Z$  の値を  $R_{sol}$  として扱い、クロノインピーダンス測定で周波数 977 Hz における電極間の  $R_{sol}$  とその位相の経時変化を表すグラフ(Fig. 2)を得た。横軸は時間、縦軸が  $R_{sol}$  と位相である。青線が AuNPs = 0 個/mL, 赤線が AuNPs =  $4.0 \times 10^{10}$  個/mL である(各 7 回測定)。Fig. 2 の  $t = 200$  s のときの  $R_{sol}$  をもとに正規確率プロットをとったものを Fig. 3 に示す。Fig. 3 から、浸透した AuNPs の存在によって  $R_{sol}$  が上昇していることがわかる。これは、AuNPs が ChrPr のセルロース繊維の隙間に入り込み、電極間のイオン移動が妨げられたことによるものと考えられる。

## 4. 結論

ChrPr に AuNPs を浸透させた状態での  $R_{sol}$  を測定し、浸透した AuNPs の存在によって  $R_{sol}$  が増加することを確認した。これにより、イムノクロマトグラフィー測定(妊娠検査・インフルエンザ診断など)において、 $R_{sol}$  を測ることによる定量的な判断の実現が見込まれる。

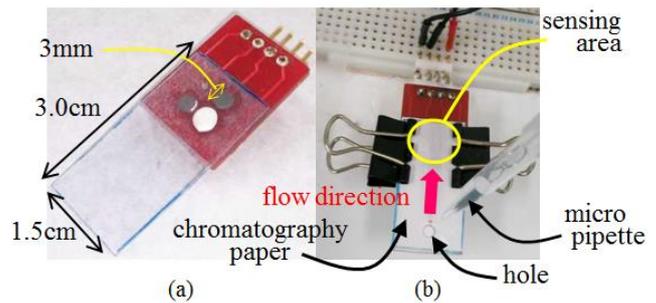


Fig. 1 Photograph of the sensor chip: (a) the electrode chip based on PCB, (b) experimental setup.

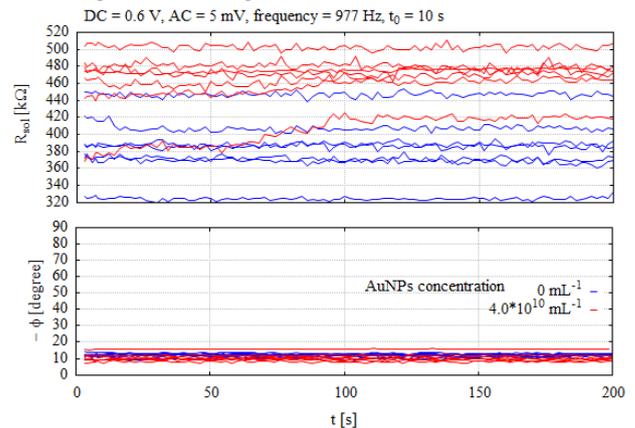


Fig. 2 A graph showing the time courses of  $R_{sol}$  and phase with and without AuNPs.

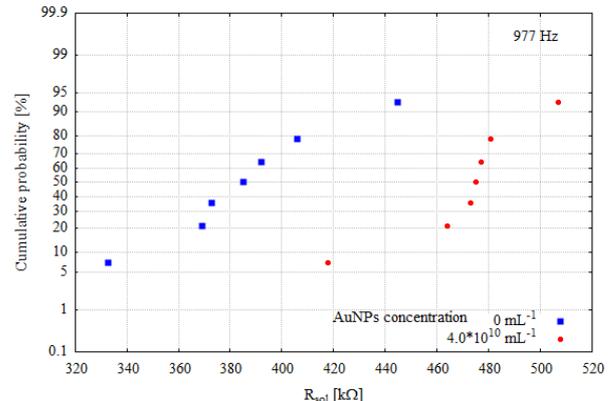


Fig. 3 Normal probability plot of  $R_{sol}$  at frequency of 977 Hz for various AuNPs concentrations shown in Fig. 2.

## 謝辞

本研究は JSPS 科研費 26289111 の助成を受けたものである。

## 参考文献

- [1] D. Zhang *et al.*, *Talanta* 85 (2011) 736.
- [2] S. Tang *et al.*, *Toxicol* 40 (2002) 255.
- [3] S. Iwahara *et al.*, *Jpn. J. Appl. Phys.* 53 (2014) 04EL07.