

針型電極による電気化学インピーダンス法を用いた溶液中金ナノ粒子の検出

Detection of Gold Nanoparticles in Aqueous Solution

using the Electrochemical Impedance Method with Needle Electrodes

立命院理工, [○]飯田 智貴, Qatrun Nada binti Mohammed Hassanuddin, 宇野 重康Ritsumeikan Univ., [○]Tomoki Iida, Qatrun Nada binti Mohammed Hassanuddin, Shigeyasu Uno

E-mail: ro0019sv@ed.ritsumei.ac.jp, suno@fc.ritsumei.ac.jp

1. はじめに

簡易で迅速な医療診断法の需要が高まっており、中でも呈色による定性判定を手法とするイムノクロマトグラフィー法は広く普及している^[1-2]。これは抗体抗原反応によって、テストラインに凝集した標識の色を判定する手法で、目視による判定のため偽陰性になることがある^[3-5]。現在までにイムノクロマトグラフィー定量測定の研究が報告されており^[6-8]、今回は中でも電気化学インピーダンス法で溶液抵抗(R_{sol})を測定した。本手法を採用する理由は、他の手法と比較して光検出器などの大型装置を必要とせず、低コスト化できるためである^[6-8]。これまでに、平面状の電極で金ナノ粒子(AuNPs)濃度による R_{sol} の違いが判定できている^[9]。しかしながら、平面状の電極は測定溶液を電極部分に直接接触させなければならず、断面積が大きいため局所的な測定が不可能である。本研究では平面状の電極ではなく針を電極として用いた。針電極は、ペーパーに穿刺するだけで電極を確実に測定溶液に接触させることができ、電極面積および電極間距離を小さくできるため局所的な R_{sol} の変化を測定可能である。今回は、大量生産品の針を電極として測定し、クロマトグラフィーペーパー(ChrPr)に浸透させた溶液中のAuNPsの有無により R_{sol} に違いが出るか確認した。

2. 実験方法

使用溶液として 0.1mM、pH=5.0 のリン酸緩衝液(PBS)と AuNPs(粒径 100nm, SIGMA-ALDRICH, CAT No. 742031)を用いた。AuNPs は遠心分離(回転数 2500rpm, 回転時間 2 時間)により AuNPs 無しの溶液(woAuNPs, 0 個/mL)と AuNPs 有りの溶液(wAuNPs, 3.84×10^{10} 個/mL)に分注した。ChrPr(Whatman, 1CHR)の大きさは 10mm×10mm、厚さは 0.18mm であり、溶液滴下量は常に 21 μ L とした。また、一方の針を作用電極とし、もう一方の針を参照および対向電極とした 2 電極測定を行った。実験装置は ALS/CH Instruments Electrochemical Analyzer Model 6018D(BAS)を用いた。Fig. 1 のように、ポリ塩化ビニル板(PVC)板、厚さ 0.1mm)を台(Stand)上にセットし、ChrPr を PVC 上に乗せ、針(ステンレス製)を ChrPr に穿刺し、PVC を貫通させた。針電極間の距離は 6mm とした。針電極表面のクリーニングのため、PBS を滴下し、サイクリックボルタンメトリー測定(印加電圧 -0.6V~0.6V, 掃引速度 100mV/s, 静止時間 0s)を 0.6V 時の電流値が収束するまで繰り返して行った。次に、新たに ChrPr をセットして PBS を滴下し、交流インピーダンス法(直流バイアス電圧 0V, 交流振幅 5mV, 周波数 $10^{-1} \sim 10^6$ Hz, 静止時間 2s)で測定した。この時 976.6Hz で最も位相変化が 0° に近くなるため、この周波数でのインピーダンスを R_{sol} とみなした。その後、周波数を 976.6Hz に固定してクロノインピーダンス測定(測定時間 60s, 静止時間 2s)により R_{sol} の経時変化を測った。woAuNPs と wAuNPs はそれぞれ 10 回測定した。クロノインピーダンス測定を行う際に ChrPr は毎回の測定ごとに交換したが、すべての測定を通して針は同じものを使用した。

3. 結果&考察

Fig. 2 の横軸は測定時間、縦軸は R_{sol} と位相変位($-\phi$)である。Fig. 2 の $-\phi$ 値は 0° 付近で安定しており、測定中一貫して R_{sol} を測定できていることがわかる。また、 R_{sol} の値が時間経過に伴い収束しており、大小関係が大きく変化していないことがわかる。Fig. 2 の測定時間 60 s 時点での 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。woAuNPs と比べて wAuNPs は R_{sol} が全体的に上昇しており、針電極でも AuNPs の有無の違いが判別できたといえる。同様の実験は計 4 回行っており、いずれにおいても R_{sol} の全体的な上昇を確認できた。

4. 結論

針電極を用いて 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。

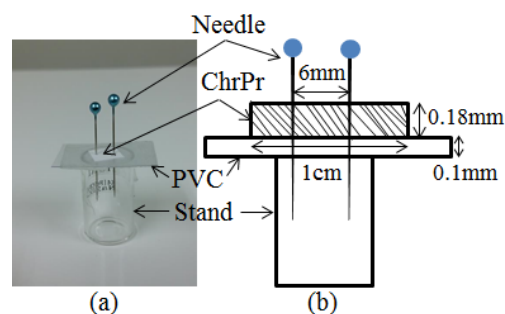
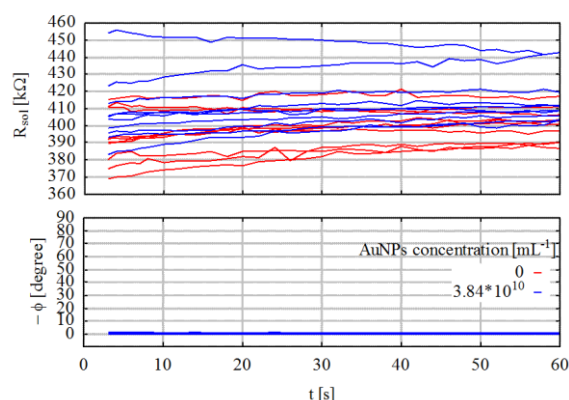
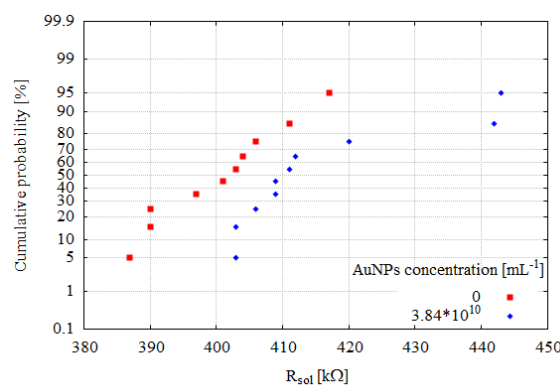


Fig.1 Measurement setup: (a) photograph, (b) schematic diagram.

Fig.2 A graph showing the time courses of R_{sol} and phase shift with (blue) and without (red) AuNPs.Fig.3 Normal probability plot of R_{sol} at $t = 60$ s method using 976.6 Hz for with/without AuNPs.

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.*, Toxicon **40** (2002) 255.
- [3] M. E. Koivunen, and R. L. Krogsrud, LABMEDICINE **37** [8], 490 (2006).
- [4] R. Shively, Morbidity and Mortality Weekly Report **61** [43], 873 (2012).
- [5] B. O'Farrell, in Lateral Flow Immunoassay, ed. R. Wong, and H. Tse (Humana Press, New York, 2010) Chap. 1.
- [6] Q. Zeng *et al.*, Am. J. Biomed. Sci. **1**, 70 (2009).
- [7] X. Mao *et al.*, Sens. Actuators B **186**, 315 (2013).
- [8] Z. Li *et al.*, Anal. Chem. **82**, 7008 (2010).
- [9] F. Hori *et al.*, International Conference on Solid State Devices and Materials (PS-11-14, SSDM 2014).