

測定対象の多様化に向けた スパッタナノカーボン薄膜電極の開発

Development of Sputtered Nanocarbon Film-based Electrodes with
Extended Analyte Zones

加藤 大

Dai KATO

電気化学検出法は、分子の酸化還元反応の際に流れる電流や電極界面の電位を測定することで、対象物質を検出する手法である。簡便・安価な検出手法として期待される一方、測定できる電位範囲が狭く微量物質の検出も困難であることから、測定対象となる物質に限られる点が課題とされてきた。本研究において我々は、従来電極では検出できなかった全核酸塩基などの生体分子、ビタミンEなどの脂溶性抗酸化物質、ヒ素イオンなどをきわめて高感度かつ再現性良く測定できる「スパッタナノカーボン薄膜電極」の開発を行った。本電極は、ナノカーボン薄膜材料の精緻な設計によって、電気化学法の適用範囲が拡大されたものであり、飲料・食品・環境・生体といった多くの分野における実用化が期待される。

Electrochemical measurement methods are a way to detect analytes by measuring the current or potential on an electrode interface during a redox reaction. The electrochemical method is expected to be an easy and inexpensive way to test water quality. However, substances which can be detected by the methods at conventional electrode materials have been limited due to the narrow measurable potential range and insufficient sensitivity for trace substances. We have successfully developed “sputtered nanocarbon film-based electrodes” that enabled the detection of (bio) molecules such as nucleic-acid bases, antioxidants such as vitamin E, and arsenic ion. These analytes are difficult to measure with the conventional electrodes with high sensitivity and good reproducibility. Our study has expanded the possibility of the use of electrochemical methods and is expected to be applied to many practical measurement devices. These could find application in various fields such as drinks, foods, environmental and biochemical substances. The new electrode attracts attention as a possible candidate for standardization of quantitation methods for the substances which are difficult to detect at conventional electrodes.

はじめに

電気化学検出法は、分子の酸化還元反応の際に流れる電流や電極界面の電位を測定する方法であり、使用する電気回路は極めて簡便安価なため、例えばpH計など、簡便安価なセンサや分析機器に用いられている。また、生体計測の分野では、家庭で用いる血糖センサのみでも大きな市場が形成されており、現在の世界市場は、1兆円(2015年)(国内：615億円)である。その他、重金属や内毒素などの環境物質、あるいは食品・飲料水中の有用物質の測定などにも利用されている。その際、電気化学検出法は、蛍光や発光測定のように目的分子の標識化や試薬の添加などを行うことなく、直接電極上での酸化還元反応により検出を行うことができ

ることや電流量が直接濃度と比例するため、定量性が良く、簡便である。また、一般的に、光学法、質量分析法は、装置サイズが比較的大型であるのに対して、電気化学検出法は、コンパクトな装置サイズでありながらも高感度計測が可能であることも、大きな特長である。しかしながら、電気化学法には、下記のようにいくつかの欠点が存し、それが多くの計測分野への展開を妨げているのが現状である。

- (1) 電位窓(測定電位範囲)が狭いため、直接電極反応する対象物質分子が少ない。
- (2) ノイズ電流に妨害され、極微量物質の信号が得られず、その結果、必要な検出限界が得られない。
- (3) 生体分子が電極表面に強く吸着し、感度を著しく低下させる。

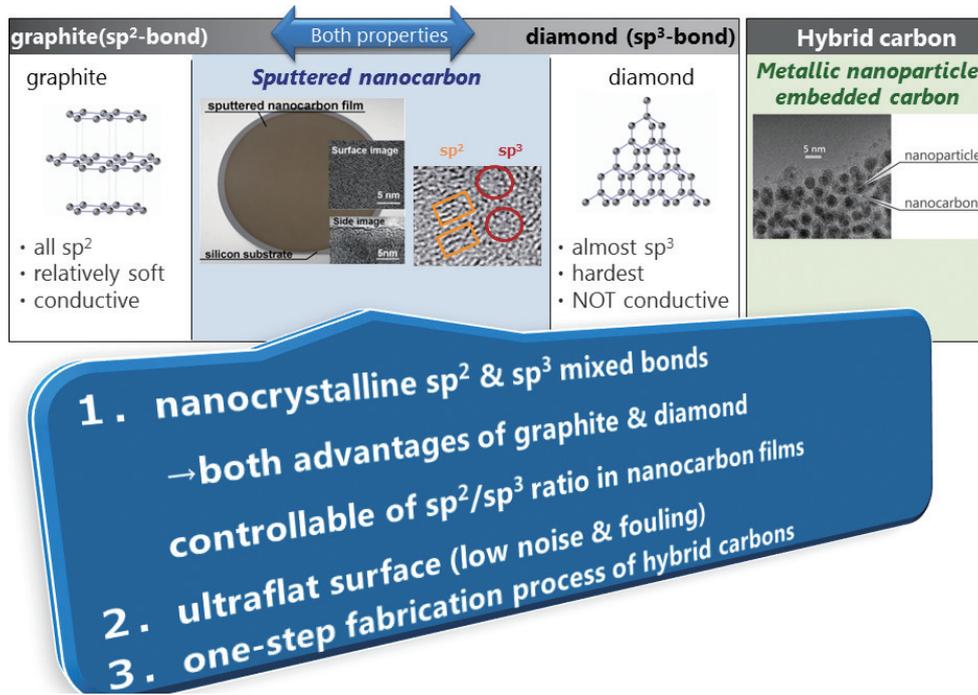


Figure 1 Sputtered nanocarbon film-based electrodes for electroanalysis.

上述の課題に対して、カーボン材料は、水の電気分解に対する過電圧が大きく、化学的にも安定なため、金や白金などの貴金属電極と比較して電位窓が広くバックグラウンド電流も低い。実際に、化学・バイオセンサ分野などの電気化学分析用材料としても、カーボン材料が広く用いられてきた^[1]。

本研究の目的は、生体・食品・飲料・環境物質などの簡便、安価な検出法として期待されている電気化学検出法において、①従来電極では検出が困難な物質の検出(測定対象の多様化)や、検出限界の向上(高性能化)が期待でき、②希少・高価な貴金属や、低性能の印刷カーボンを用いた既存のセンサ電極を代替できる(低コスト化)、「高性能なナノカーボン薄膜電極」の開発を行うことである。本稿では、筆者らが産業技術総合研究所にて開発してきたスパッタナノカーボン薄膜電極の構造制御によって達成してきた電気化学センシングに関する研究成果について紹介したい。

スパッタナノカーボン薄膜電極

我々はこれまでに、電子サイクロトロン共鳴 (Electron Cyclotron Resonance : ECR) スパッタ法やアンバランストマグネトロン (Unbalanced Magnetron : UBM) スパッタ法を用いたナノカーボン薄膜の開発と、本電極を用いた電気化学分析やバイオセンサへの展開を検討してきた^[2, 3]。本スパッタ法では、カーボン膜を室温で製膜でき、スパッタ中に基板への高密度イオン照射を行うことにより、sp²/sp³結合比などの構造制御ができる。このため、適度な構造

制御を行うと、グラファイト並の高い導電性(電極活性)とダイヤモンド並の硬度(安定性)を併せ持ったナノカーボン薄膜材料を作製可能である (Figure 1)。Figure 2にナノカーボン薄膜(sp³結合=40%)電極の電位窓を他のカーボン電極であるグラッシーカーボン (GC, sp³=0%)、ポロンドープダイヤモンド (BDD, sp³=100%) 電極と比較して示す。ナノカーボン薄膜は、GCに比べてより電位窓が広く、酸化側でBDD電極に準じる電位窓を有する^[2, 3]。これは、sp³結合を含むことで膜が電気化学的な酸化に対して安定化したことを示す。また、充電電流(酸化側と還元側への電位掃引による電流値の差)も極めて低い。これは、膜表面が平坦で面積が極めて小さいこと、及び表面の酸素を含む置換基が

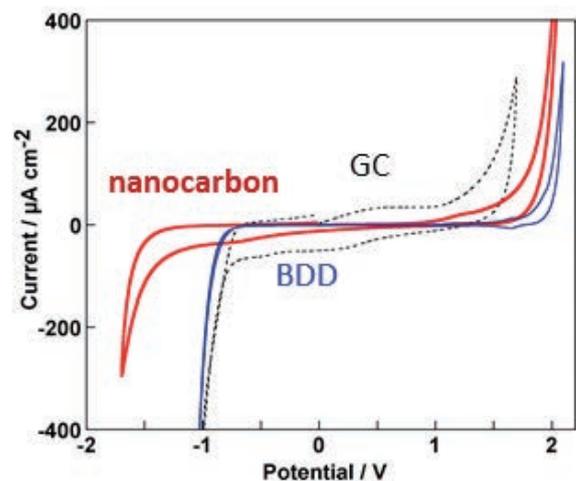


Figure 2 Potential windows of nanocarbon film, GC and BDD electrodes, measured in 50 mM H₂SO₄ solution at 0.1 V/s.

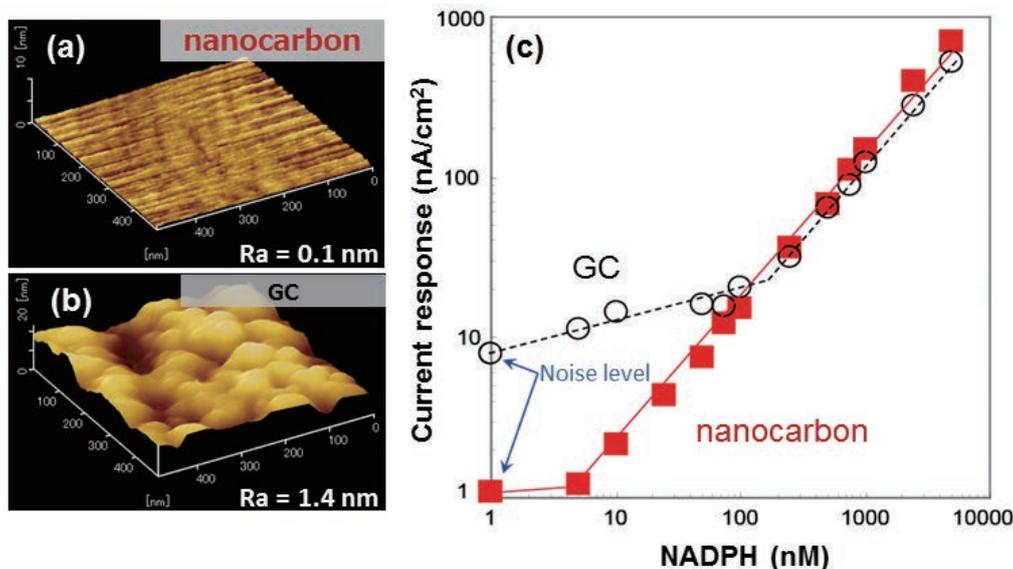


Figure 3 AFM images of (a) nanocarbon film and (b) GC surface. (c) Calibration curves of NADPH by direct oxidation at the nanocarbon film and GC electrode.

少ないことによる。Figure 3aにナノカーボン薄膜表面のAFM像を示す。表面平均粗さ(Ra)は0.1 nmと極めて平坦である。これは、GC電極の値(Figure 3b)より1桁以上小さく、ほぼ原子オーダーの平坦性を有する^[4]。このことは、より低いノイズ電流を得る上で非常に重要な薄膜電極特性である。実際に生体分子は存在濃度が低い場合が多く、上述のような低いノイズ電流特性は極めて重要である。実際に両電極を用い電気化学活性種である生体分子(nicotinamide adenine dinucleotide phosphate; NADPH)の直接酸化を行った結果をFigure 3cに示す。ナノカーボン電極における検出限界は10 nMであり、GC電極(検出限界250 nM)よりも一桁低いレベルまで検出できることが分かる^[4]。さらには上述の広い電位窓、低いノイズ電流の両特性を駆使することで、DNA中に後天的に起きるシトシンのメチル化を電気化学的に直接モニタリングできることを世界で初めて示した(従来のカーボン電極では、酸化電位の高いシトシン、メチルシトシンの酸化反応を検出できない)。さらに、本ナノカーボンは、その表面にフッ素などを含む置換基、あるいは金属ナノ粒子を、表面平坦性を維持したまま導入できる。そのため、これまで検出が困難であった様々な検出対象(脂溶性の抗酸化物質、エンドトキシン、ヒ素イオンなど)に合せた電極設計を実現できる。以下に本薄膜の特長を駆使した電気化学検出に関する研究成果について紹介する。

フッ素化ナノカーボン薄膜電極による電気化学検出

ナノカーボン表面は、CF₄ガスによる反応性リアクティブイオンエッチング処理により、表面平坦性を損なうことなくフッ素化することが可能である^[5]。カーボン表面のフッ

素化は従来から種々の方法で検討されているが、フッ素化と同時に表面粗さが増加することが多い。本節では、表面をフッ素化したナノカーボンの開発とこれを利用した脂溶性の抗酸化物質であるビタミンEの計測に関する研究について紹介する。Figure 4に、フッ素化ナノカーボン薄膜により、オリーブオイルやコーヒーなどの食品に含まれるビタミンEの電気化学測定を行った結果を示す。抗酸化性物質群には、脂溶性のビタミンEだけでなく、親水性のビタミンCなど様々なものが混在していることが知られており、各々の測定の際には、両者を分離抽出する必要がある。共

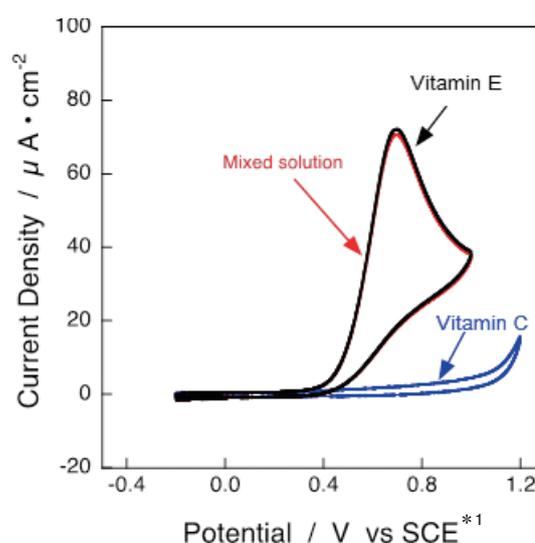


Figure 4 Cyclic voltammograms of 1 mM vitamin E, 1 mM vitamin C and the mixed (vitamin E and vitamin C) solution using the fluorinated nanocarbon film electrode at 0.1 V/s.

*1: V vs SCE(Saturated Calomel Electrode): 飽和カロメル電極を基準にして測定された電位

同研究者の熊本大学 國武教授らが開発した安定な両連続相マイクロエマルジョン(Bicontinuous Microemulsion ; BME)中で主に水層に含まれるビタミンCと油層に含まれるビタミンEの検出に用いたところ、フッ素化ナノカーボン薄膜では、Figure 4に示す様にビタミンCのピークは全く観測されず、ビタミンEのシャープなピークのみ選択的に検出できた^[6]。これはフッ素化し親油性の増加したフッ素化ナノカーボン表面には同じく親油性のビタミンEしかアクセスできなくなったためであると考えている。実際に、フッ素化を行わないナノカーボン薄膜では、両ビタミンが検出された。また、オリーブオイル中のビタミンEの分析ではフッ素化ナノカーボン薄膜のみがピークを観測できることが確認され、本電極が食品中の抗酸化成分の簡易定量に有効であることが実証された^[7]。また、このフッ素化ナノカーボン薄膜電極の低いノイズ特性を利用することで、ng/mLオーダーの低濃度で存在する環境物質である内毒素(エンドトキシン)を高感度に計測できることにも成功している^[8]。以上の結果から、フッ素化ナノカーボン電極は、食品あるいは環境分子に対する簡便かつ高感度な電気化学センサのプラットフォームとなり得ることが明らかとなった。

ハイブリッドカーボン薄膜電極の作製とヒ素イオンの安定的な高感度計測

最後に金属とカーボンの共スパッタ法による金属ナノ粒子埋込み型カーボン電極について紹介する。上述のナノカーボン薄膜のスパッタの際に、金属を同時にスパッタ(共スパッタ)すると、Figure 5a, 5bに示したTEM像のような金属ナノ粒子が埋め込まれたカーボン薄膜が作製可能であることを見出した。本薄膜構造は、カーボンと金属は元来、相溶性が低いために、スパッタ量を少量に制御した金属が自発的に凝集する現象により得られる。ここでは金属に金を用いた金ナノ粒子埋込み型カーボン電極の作製とこれを用いた環境水中のヒ素イオンの検出の結果を示す。得られた金ナノ粒子(平均粒径5 nm)は部分的にカーボン内に埋没(逆に、金ナノ粒子の一部は表面に露出)している構造を有する(Figure 5a, 5b)。本薄膜では、Figure 5c, 5dに示したように、ナノサイズ粒子特有の触媒活性の向上により、ヒ素イオンを高感度に検出することに成功した(ヒ素に対する電極触媒活性部分は金で、カーボン部分は不活性)。検出感度はWHOによる勧告値(10 ppb)を下回る0.5 ppbであった。さらには、膜中に埋め込まれた金ナノ粒子は、使用中に電極から脱離しなかった。前述したように、金とカーボンは相溶性が低いため、これまでに報告されている物理的に金ナノ粒子をカーボン表面にキャストして得

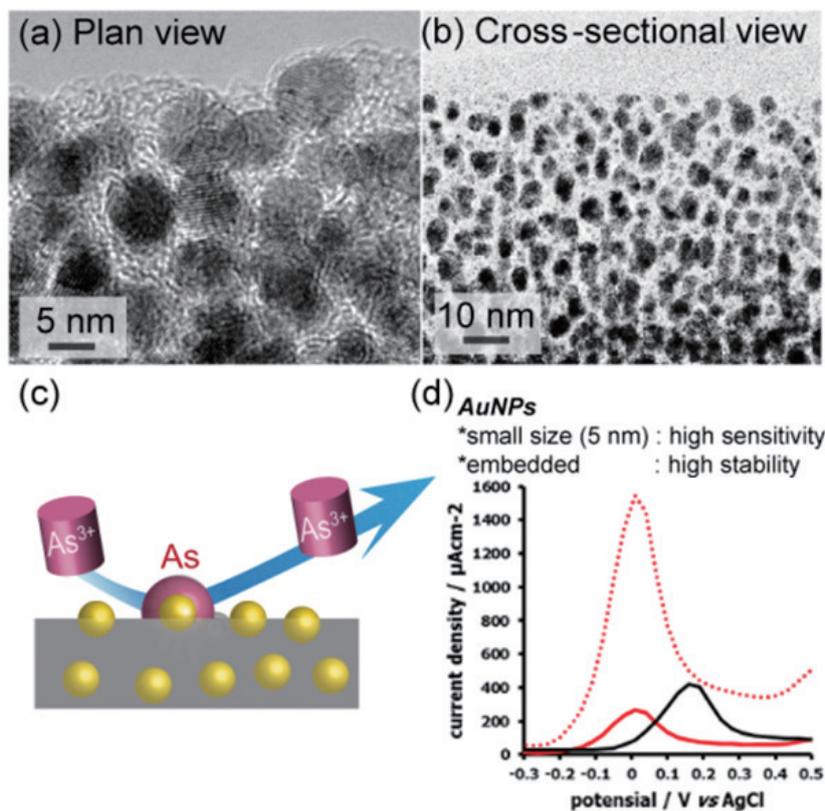


Figure 5 A gold nanoparticle (AuNP)-embedded carbon film electrode for detecting arsenic (As^{3+}) ions. TEM images of the AuNP-embedded carbon film (Au=17 at.%) electrode; (a) plan and (b) cross-section view, (c) Schematic illustration of electrochemical As measurement. (d) Typical voltammograms of 1000 ppb As^{3+} in 0.1 M Na_2HPO_4 with the AuNP-embedded carbon film (red solid line, Au=17 at.%) and the bulk Au electrodes (black line). The red dotted line is voltammogram result (red solid line) corrected by Au concentration.

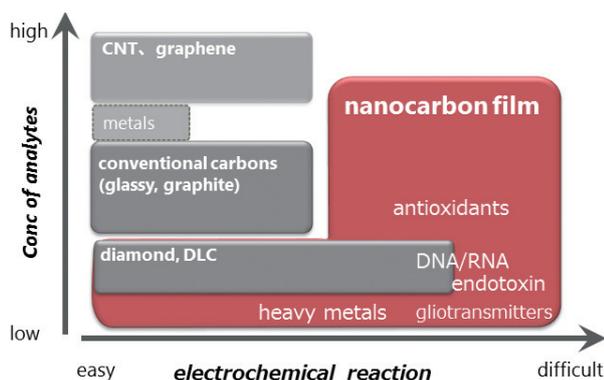


Figure 6 Grid matrix of detectable analyte zones for carbon-based electrode materials. Nanocarbon film-based electrodes can extend ability to detect analytes.

られた修飾電極では、測定時の金ナノ粒子の脱離が問題視されている。これに比べ本薄膜中の金ナノ粒子は安定であり、その結果繰返し測定において非常に優れた安定性を示すことも明らかとなった^[9]。

おわりに

ナノカーボン材料はその構造の変化のみで多彩な機械的・電気的特性を示す魅力的な材料である。本研究の意義は、Figure 6に示したようにナノカーボン薄膜電極の開発によって、従来電極では困難な物質の検出が達成できたことである(測定対象の多様化)。これにより、電気化学分析法の可能性を拡大させることに貢献したことは、非常に意義がある。今後もナノカーボン薄膜電極へ新たな付加価値を付与することに努め、より一層、学術的にも産業的にも電気化学センシングの可能性を拡大させることに貢献したい。

謝辞

本研究を遂行するにあたり、丹羽修先生(埼玉工業大学)、鎌田智之博士、栗田僚二博士(産業技術総合研究所)をはじめ、國武雅司先生(熊本大学)、藏屋英介先生(沖縄工業高等専門学校)、西見大成博士(人工光合成化学プロセス技術研究組合)、岡田元宏先生(三重大学)、戸所正美博士(JNC株式会社)、他多くの共同研究者の皆様、学生の皆様にご指導、ご支援いただきました。また所属研究室の皆様をはじめ多くの方に支えて頂いたこと、この場をお借りして厚く御礼を申し上げます。また、本研究の一部は科学研究費補助金、科学技術振興機構、埼玉県産学連携研究開発プロジェクトのご支援の元に行われました。重ねて御礼申し上げます。

参考文献

- [1] R. L. McCreery, "Advanced carbon electrode materials for molecular electrochemistry." *Chemical Reviews*, vol.108, pp.2646-2687, 2008.
- [2] O. Niwa, J. Jia, Y. Sato, D. Kato, R. Kurita, K. Maruyama, K. Suzuki, S. Hirono, "Electrochemical performance of angstrom level flat sputtered carbon film consisting of sp^2 and sp^3 mixed bonds." *Journal of American Chemical Society*, vol.128, no.22, pp.7144-7145, 2006.
- [3] T. Kamata, D. Kato, H. Ida, O. Niwa, "Structure and electrochemical characterization of carbon films formed by unbalanced magnetron (UBM)sputtering method." *Diamond and Related Materials*, vol.49, pp.25-32, 2014.
- [4] N. Sekioka, D. Kato, R. Kurita, S. Hirono, O. Niwa, "Improved detection limit for an electrochemical gamma-aminobutyric acid sensor based on stable NADPH detection using an electron cyclotron resonance sputtered carbon film electrode." *Sensors and Actuators B-Chemical*, vol.129, no.1, pp.442-449, 2008.
- [5] A. Ueda, D. Kato, N. Sekioka, T. Kamata, R. Kurita, H. Uetsuka, Y. Hattori, S. Hirono, S. Umemura, O. Niwa, "Fabrication of electrochemically stable fluorinated nanocarbon film compared with other fluorinated carbon materials." *Carbon*, vol.47, no.8, pp.1943-1952, 2009.
- [6] E. Kuraya, S. Nagatomo, K. Sakata, D. Kato, O. Niwa, T. Nishimi, M. Kunitake, "Simultaneous electrochemical analysis of hydrophilic and lipophilic antioxidants in bicontinuous microemulsion." *Analytical Chemistry*, vol.87, no.3, pp.1489-1493, 2015.
- [7] E. Kuraya, S. Nagatomo, K. Sakata, D. Kato, O. Niwa, T. Nishimi, M. Kunitake, "Direct Analysis of Lipophilic Antioxidants of Olive Oils Using Bicontinuous Microemulsions." *Analytical Chemistry*, vol.88, no.2, pp.1202-1209, 2016.
- [8] A. Oda, D. Kato, K. Yoshioka, M. Tanaka, T. Kamata, M. Todokoro, O. Niwa, "Fluorinated Nanocarbon Film Electrode Capable of Signal Amplification for Lipopolysaccharide Detection." *Electrochimica Acta*, vol.197, pp.152-158, 2016.
- [9] D. Kato, T. Kamata, D. Kato, H. Yanagisawa, O. Niwa, 2016. "Au Nanoparticle-Embedded Carbon Films for Electrochemical As^{3+} Detection with High Sensitivity and Stability." *Analytical Chemistry*, vol.88, no.5, pp.2944-2951, 2016.



加藤 大

Dai KATO

国立研究開発法人 産業技術総合研究所
バイオメディカル研究部門
主任研究員
博士(工学)