

窒素化プラズマ処理によるスパッタカーボン薄膜電極の  
電極活性向上と電気化学分析への応用に関する研究

Study on electrochemical activity improvement of sputtered thin carbon  
film electrodes by nitrogen plasma treatment and their application for  
electrochemical analysis

埼玉工業大学大学院工学研究科 生命環境化学専攻

マイクロ・ナノ化学（丹羽）研究室

博士後期課程 太田 早紀

2023年3月

# 目次

第1章 緒論.....	4
1-1 緒言.....	4
1-2 ナノカーボン材料の特性と応用.....	5
1-3 ナノカーボン材料のバイオセンサへの応用.....	7
1-4 電気化学バイオセンサの表面改質.....	7
1-4-1 金属ナノ粒子修飾.....	8
1-4-2 有機材料修飾.....	8
1-4-3 酸素終端処理.....	9
1-5 窒素化カーボン電極.....	9
1-6 本論文の目的と構成.....	11
1-7 参考文献.....	12
第2章 神経伝達物質であるセロトニンの電気化学分析.....	16
2-1 背景と目的.....	16
2-2 実験.....	18
2-2-1 カーボン薄膜電極の作製.....	18
2-2-2 プラズマ処理.....	19
2-3 結果及び考察.....	20
2-3-1 電極特性評価.....	20
2-3-2 セロトニンとその代謝物の電気化学分析.....	21
2-4 第2章 結論.....	28
2-5 参考文献.....	29
第3章 タンパク質存在下の電気化学分析.....	30
3-1 背景と目的.....	30
3-2 実験.....	31

3-3 結果及び考察 .....	32
3-3-1 電極表面処理後の置換基の解析.....	32
3-3-2 タンパク質(BSA)添加前後のフェリシアニドの電気化学分析.....	35
3-3-3 血清濃度のタンパク質存在下のフェリシアニドの電気化学分析.....	41
3-3-4 血清タンパク質存在下と同粘度のエチレングリコール存在下のフェリシアニドの電気化学分析.....	42
3-3-5 タンパク質存在下でのアセトアミノフェンの電気化学分析.....	48
3-4 第3章 結論.....	53
3-5 参考文献.....	54
第4章 窒素化ニッケル(Ni)ナノ粒子修飾電極による糖の検出.....	57
4-1 背景と目的.....	57
4-2 実験方法.....	59
4-3 結果及び考察.....	60
4-3-1 Ni ナノ粒子修飾電極の FE-SEM, HR-TEM, HAADF-STEM-EDS 観察.....	60
4-3-2 Ni ナノ粒子表面の活性点形成反応.....	63
4-3-3 オリゴ糖の電気化学分析と pH 依存性.....	65
4-4 第4章 結論.....	66
4-5 参考文献.....	67
第5章 総括.....	69
発表リスト.....	71
本論文を構成する学術論文.....	71
その他の論文.....	71
学会発表.....	72
口頭発表.....	72
ポスター発表.....	73
謝辞.....	74



# 第1章 緒論

## 1-1 緒言

固体カーボン材料において炭素原子同士の結合状態は、大きく分けてグラファイト ( $sp^2$ ) 結合とダイヤモンド ( $sp^3$ ) 結合が存在する。グラファイト構造は黒鉛や繊維など多様な形態があり、金属と比較して柔らかく軽量であることから航空機や自動車の構造材に使用される。また、導電性に優れることから電気二重層コンデンサなどのエレクトロニクス分野、電池の負極材料としてエネルギー分野など幅広く用いられている。一方でダイヤモンド構造は三次元的に規則正しく共有結合した結晶であり、非常に頑丈であることから切削工具に利用される。また、ダイヤモンドのバンドギャップは 5.5 eV であり、高純度で室温の状態では絶縁体だが、熱伝導率は 2000 W/m·K と非常に高いことや、異元素をドーピングさせることで導電体となる為、半導体材料としても利用されている。このようにカーボン材料は結合状態によって異なる特性を示すことが知られている。さらに、 $sp^2$  結合と  $sp^3$  結合の状態を混合させることでグラファイトとダイヤモンドの両方の性質を有することが可能となる。図 1-1 に示すように、A. C. Ferrari らは  $sp^3$  結合を多く含む  $sp^2/sp^3$  結合混合材料であるダイヤモンドライクカーボン (Diamond-like carbon : DLC) の組成と構造の関係を相関図に示した [1]。DLC は高硬度、耐摩耗性、化学的安定性、耐ガス透過性、生体親和性、赤外線透過性に優れていることから自動車部品、集積回路などの電子機器、ペットボトルの酸素バリア膜コーティング、生体・医療材料機器へのコーティングなど幅広い産業分野に応用されている [2]。

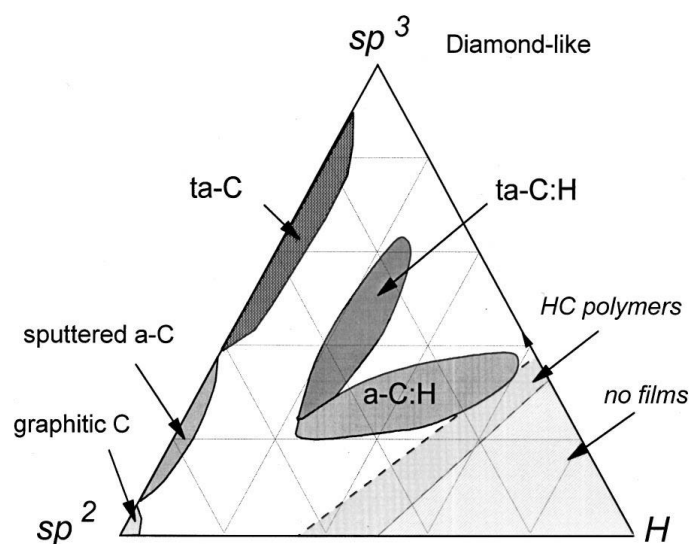


図 1-1. アモルファスカーボンの相関図. [1]

## 1-2 ナノカーボン材料の特性と応用

カーボン材料は結合状態や結晶構造によって多様な特性があることを述べたが、サイズや形状によっても様々な特性を発揮することができ、より多くの分野へ展開することが可能となる。近年では非常に小さな構造を持つ”ナノカーボン材料”が注目され、研究・開発が進められている。その代表例を以下に挙げる。

### 1) フラーレン

フラーレンは炭素原子 60 個が球状に結合しており、炭素のみから構成されているユニークな化合物である。1985 年にハロルド・クロトー、リチャード・スモーリー、ロバート・カールらが真空状態でディスク状のグラファイトにレーザーを照射することでフラーレンが生成することを発見した[3]。彼らは 1996 年にノーベル化学賞を受賞している。

### 2) カーボンナノチューブ

カーボンナノチューブ(Carbon nanotubes : CNT)は炭素原子のみが円筒状に結合した化合

物であり、単層 (Single-walled carbon nanotubes : SWCNT) と多層 (Multi-walled carbon nanotubes : MWCNTs) に分類される。1991 年に飯島澄男はアーク放電蒸着によって CNT を生成し、電子顕微鏡による観察から構造を解析した[4]。また、遠藤守信らは CNT の大量合成法を確立した。CNT は熱伝導性が良く、結合の状態によっては優れた導電性を示す他、半導体特性を示す結合状態も存在する[5]。

### 3) グラフェン

グラフェンは炭素原子が平面状に結合しており、原子レベルで薄い単層構造である。グラフェンがファンデルワールス力により多層に重なることでグラファイトが形成される。2004 年にアンドレ・ガイム、コンスタンチン・ノボセロフらは高配向性グラファイトから粘着テープを使って剥離させることでグラフェンの単離に成功した[6]。彼らは 2010 年にノーベル物理学賞を受賞している。現在ではメタンガスを炭素源とし、化学気相成長法 (Chemical vapor deposition : CVD) によって金属基板上に単層グラフェンを成長させる作製法も報告されている[7]。

このように 1985 年のフラーレンの発見以降、2000 年代にかけて多くのナノカーボン材料とその特性、作製法が報告されてきた。ナノカーボン材料のユニークなところは  $sp^2/sp^3$  結合、サイズ、形態の他、生体適合性の良さと加工が容易である点が挙げられる。

ナノカーボン材料の応用分野としては、ナノサイズ化し表面積を大きくすることで、太陽電池や燃料電池などのエネルギー分野、バンドギャップの制御及び薄膜化によりトランジスタやディスプレイなどのエレクトロニクス分野、加工の容易さと生体適合性の良さから電気化学バイオセンサや医療用材料としての応用[8]など多岐に渡る。

### 1-3 ナノカーボン材料のバイオセンサへの応用

身体の状態を把握するため、血圧計や体温計などの小型の物理センサ製品は広く販売されており、簡単に調べることができる。しかしながら、疾病の診断や検査など健康状態を詳細に調べるには生体から血液や唾液、尿などの検体を採取し、その中に含まれる分子の量や成分比を調べる必要がある。検体の検査は医療機関で行われることが多いのが現状である。現在、癌や糖尿病などの生活習慣病が世界的に増加傾向にある。世界保健機関（WHO）は2020年に、2000年から2019年までの20年間の「世界の死因トップ10」を発表した[9]。この報告により、心疾患、糖尿病、癌などの生活習慣病が6つを占めていることが明らかとなった。今後も途上国の食習慣の変化や更なる高齢化により生活習慣病の割合は増加していくと考えられている。

日本国内においては少子高齢化が進んでいる状況にあり、疾病の早期診断、予防のために簡便、迅速かつ低コストに生体分子を検出する「バイオセンサ」の開発が行われている。バイオセンサは検体中に含まれる分析ターゲットの定性、定量をおこなう測定器である。酵素や抗体、核酸など特定の分子を認識する、いわゆる「分子認識能」を持つ分子の反応を光や電気による信号で計測する。ナノカーボン材料は薄膜化、柔軟性、生体適合性、加工の容易さを有するためにバイオセンサの材料として研究開発が進められている。

### 1-4 電気化学バイオセンサの表面改質

電気化学分析は電極と溶液の界面である、僅か1 nmの電気二重層で起こる反応によって流れる電流や電極界面の電位差から定量を行う分析法である。非常に小さな範囲で生じる反応を計測する為、僅かな溶液量でも電気化学分析が可能でありリアルタイムでモニタリングすることも可能である。近年では非侵襲型のウェアラブルバイオセンサや微小な電極で脳内の生体分子をリアルタイムでモニタリングするin vivoセンサが開発されている[10-13]。

しかしながら、ナノカーボン電極を使用した生体分子の検出にはいくつか課題がある。1



つは電気化学活性が低い生体分子はより大きな電位を印加する必要があり、ナノカーボン単体の電極ではカーボン電極表面の過電圧の大きい分子を測定することが困難である。2 つ目は、検体中に含まれるタンパク質やリン脂質など分子量の大きい分子が電極表面に吸着し、表面が汚染されることで検出感度の低下を招く恐れがある。また、低分子であっても分析ターゲットの検出を行った際に電解生成物が吸着することで電極表面が汚染される場合もある。こうした課題を解決するため、電極表面を加工する技術が報告されている。以下にその例を紹介する。

#### 1-4-1 金属ナノ粒子修飾

金属はナノ粒子化するとバルクとは異なる性質を示す。電気化学反応は電極表面上の反応であるため、バルクと比較してナノ粒子化させることで表面積を大きくすることができ、コーナーやエッジが増加することで反応サイトが増加し、高活性化が可能となる。このような特徴から、金属のナノ粒子をカーボン電極に修飾することで触媒活性を持たせることができる。そのため金、銀、白金、ニッケル、銅など様々なナノ粒子をグラッシーカーボン (GC) や CNT 上にめっきした電極によるアルコールや糖類、過酸化水素の低電位での酸化や高感度分析が報告されている [14-18]。

#### 1-4-2 有機材料修飾

カーボン電極上を有機材料によって修飾することで親水化させ、吸着汚染を抑制する技術が数多く報告されている。特に、ポリエチレングリコール (Poly (ethylene glycol) : PEG) による修飾電極の報告は非常に多い [19-21]。PEG の基本構造は炭素原子と酸素原子が結合している分子鎖であり親水性な為、水和構造を形成することから生体細胞への毒性が低く、生体適合性が良いとされている。吸着抑制の効果は PEG 修飾の密度に影響され、PEG をより高密度にしたポリマーブラシ修飾技術も報告されている [22, 23]。さらに、負電荷と正電荷の両方の性質を有するツビッターイオン型のポリマーや、ナフィオン膜による修飾を施した電

極材料も報告されている [24, 25]。

### 1-4-3 酸素終端処理

タンパク質のような巨大な分子は疎水性であるため、タンパク質と電極間で疎水性相互作用が生じ、吸着汚染が引き起こされる。その為、カーボン電極表面を、酸素を含む官能基で修飾することで親水化させ、吸着を抑制する技術が報告されている。関岡らは電子サイクロトロン共鳴 (ECR) スパッタリングで製膜した、ECR スパッタカーボン膜を pH7 のリン酸緩衝液中で 0 V~2 V 間を 10 回サイクリックボルタンメトリーで掃引することでスパッタカーボン膜を親水化する、電気化学的処理法を報告している [26]。また、酸素プラズマによる気相処理を施すことで親水化させる手法もあり、水谷らのグループによって DLC 電極表面の親水化、Xue らによって電子サイクロトロン共鳴 (ECR) スパッタカーボン膜の親水化により 10 mg/mL のウシ血清アルブミン (BSA) 存在下で安定な電気化学測定が行えることを示した [27, 28]。

### 1-5 窒素化カーボン電極

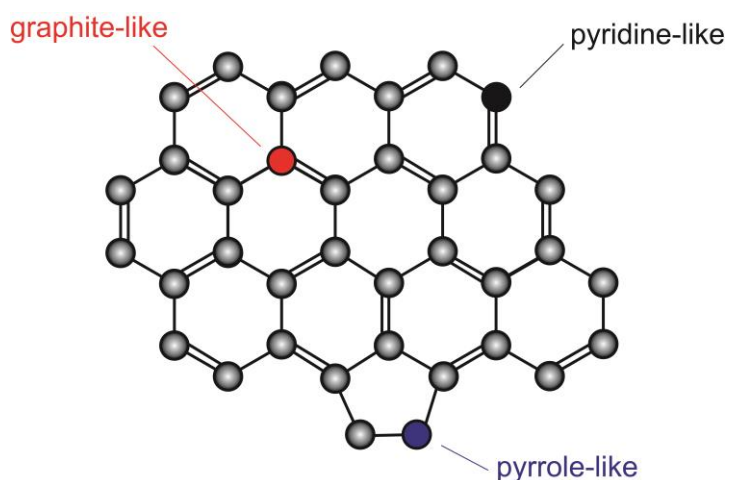


図 1-2. カーボン材料と窒素原子の結合の種類

近年では酸素終端化だけでなく、窒素原子ドーパカーボン電極や窒素系官能基で終端化さ

せた電極材料が報告されている。図 1-2 に示すように、窒素原子の炭素材料骨格へのドーピングにはピリジン構造、ピロール構造、グラファイトライク構造などが挙げられる。

近年では燃料電池材料の白金触媒の代替として窒素ドーブカーボンアロイ電極の研究が盛んに進められている。尾崎らは窒素を含む有機物であるフタロシアニンを前駆体とし、1000 °Cの高温条件で熱分解を行い、白金などの金属を含まない窒素ドーブカーボンアロイ電極を作製した。作製したカーボンアロイ電極によって酸素還元反応（ORR）活性が向上したことを報告した[29]。中村らの研究グループはエッジが多く活性の高い、高配向性熱分解グラファイト（HOPG）にピリジン構造が多いカーボン材料とグラファイトライク構造が多いカーボン材料をそれぞれ作製した。この研究により、ピリジン構造がルイス塩基を形成し、ORR 活性が向上することを報告している[30]。また、生体分子の検出においても、窒素化カーボン電極は、窒素を含むことで電極表面が正電荷を帯び、ノルエピネフリンの高感度な検出や負電荷の L-アスコルビン酸の過電圧低下が可能であり[31, 32]、窒素を含む事で電極の活性化が期待できる。

## 1-6 本論文の目的と構成

本研究ではスパッタ法で作製したナノカーボン薄膜電極に窒素化プラズマ処理を施すことによる、電極活性の向上と電気化学分析への応用を目的とした。生体分子の安定した電気化学分析に向けて酸素系官能基と窒素系官能基で電極表面を修飾することで、生体分子の吸着を抑制する電極の開発、検討を行った。また、窒素原子を担体としたニッケルナノ粒子めっき電極を作製し、窒素原子がニッケルナノ粒子に与える影響についても検討を行った。本論文の構成を以下に示す。

第2章、3章ではアンモニア水あるいはアンモニアガスを窒素源としてカーボン薄膜にプラズマ処理を施して作製した窒素を含む親水的な電極とその吸着抑制について述べる。第2章において神経伝達物質であるセロトニンとその代謝物の電気化学分析を行った。分析対象物の電解生成物が疎水性の低分子になることから表面処理した電極による分析対象物の吸着抑制を試みた。第3章では、第2章と同様に作製した電極で分子量の大きいタンパク質共存化でも安定した電気化学分析を行うことができるかを検討した。

第4章では窒素ガス雰囲気下でプラズマ処理を施した電極にニッケルナノ粒子をメッキした電極を作製した。作製した電極でオリゴ糖の分析を行い、窒素化カーボン薄膜を担体としたニッケルナノ粒子触媒の高活性化を試みた。

## 1-7 参考文献

- [1] A. C. Ferrari, and J. Robertson, Interpretation of Raman spectra of disordered and amorphous carbon, *Phys. Rev. B*, 2000, **61** (20), 14095-14107.
- [2]一般社団法人 ニューダイヤモンドフォーラム, <https://jndf.org/ja/nakama/dlc.html>
- [3] H. W. Kroto, J. R. Heath, S. C. O'Brien, R. F. Curl, and R. E. Smalley, C<sub>60</sub> : Buckminsterfullerene, *Nature*, 1985, **318** (14), 162-163.
- [4] S. Iijima, *Nature*, Helical microtubules of graphitic carbon, 1991, **354**, 56-58.
- [5] A.P. Graham, G.S. Duesberg, W. Hoenlein, F. Kreupl, M. Liebau, R. Martin, B. Rajasekharan, W. Pamler, R. Seidel, W. Steinhoegl, and E. Unger, How do carbon nanotubes fit into the semiconductor roadmap?, *Appl. Phys. A*, 2005, **80**, 1141–1151.
- [6] K.S. Novoselov, A.K. Geim, S.V. Morozov, D. Jiang, Y. Zhang, S.V. Dubonos, I.V. Grigorieva, and A.A. Firsov, Electric Field Effect in Atomically Thin Carbon Films, *Science*, 2004, **306** (5696), 666-669.
- [7] Q. Yu, J. Lian, S. Siriponglert, H. Li, Y. P. Chen, and S-S. Pei, Graphene segregated on Ni surfaces and transferred to insulators, *Appl. Phys. Lett.*, 2008, **93**, 113103.
- [8] N. Saito, Y. Usui, K. Aoki, N. Narita, M. Shimizu, K. Hara, N. Ogiwara, K. Nakamura, N. Ishigaki, H. Kato, S. Taruta, and M. Endo, Carbon nanotubes: biomaterial applications, *Chem. Soc. Rev.*, 2009, **38**, 1897-1903.
- [9]WHO による「2000 年から 2019 年までの世界の死因トップ 10」調査報告  
<https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/the-top-10-causes-of-death>
- [10] A. Suzuki, T. A. Ivandini, K. Yoshimi, A. Fujishima, G. Oyama, T. Nakazato, N. Hattori, S. Kitazawa, and Y. Einaga, Fabrication, Characterization, and Application of Boron-Doped Diamond Microelectrodes for in Vivo Dopamine Detection, *Anal. Chem.*, 2007, **79**, 8608-8615.
- [11] A. Hanawa, G. Ogata, S. Sawamura, K. Asai, S. Kanzaki, H. Hibino, and Y. Einaga, In Vivo

Real-Time Simultaneous Examination of Drug Kinetics at Two Separate Locations Using Boron-Doped Diamond Microelectrodes, *Anal. Chem.*, 2020, **92**, 13742-13749.

[12] L. I. Netchiporouk, N. F. Shram, N. Jaffrezic-Renault, C. Martelet, and R. Cespeglio, In Vivo Brain Glucose Measurements: Differential Normal Pulse Voltammetry with Enzyme-Modified Carbon Fiber Microelectrodes, *Anal. Chem.*, 1996, **68**, 4358-4364.

[13] D-W. Park, J. P. Ness, S. K. Brodnick, C. Esquibel, J. Novello, F. Atry, D-H. Baek, H. Kim, J. Bong, K. I. Swanson, A. J. Suminski, K. J. Otto, R. Pashaie, J. C. Williams, and Z. Ma, Electrical Neural Stimulation and Simultaneous *in Vivo* Monitoring with Transparent Graphene Electrode Arrays Implanted in GCaMP6f Mice, *ACS Nano*, 2018, **12**, 148-157.

[14] L. Tang, G. Zeng, G. Shen, Y. Zhang, Y. Li, C. Fan, C. Liu, and C. Niu, Highly sensitive sensor for detection of NADH based on catalytic growth of Au nanoparticles on glassy carbon electrode, *Anal. Bioanal. Chem.*, 2009, **393**, 1677-1684.

[15] C. M. Welch, C. E. Banks, A. O. Simm, and R. G. Compton, Silver nanoparticle assemblies supported on glassy-carbon electrodes for the electro-analytical detection of hydrogen peroxide, *Anal. Bioanal. Chem.*, 2005, **382**, 12-21.

[16] H. Wu, J. Wang, X. Kang, C. Wang, D. Wang, J. Liu, I. A. Aksay, and Y. Lin, Glucose biosensor based on immobilization of glucose oxidase in platinum nanoparticles/graphene/chitosan nanocomposite film, *Talanta*, 2009, **80**, 403-406.

[17] T. You, O. Niwa, Z. Chen, K. Hayashi, M. Tomita, and S. Hirono, An Amperometric Detector Formed of Highly Dispersed Ni Nanoparticles Embedded in a Graphite-like Carbon Film Electrode for Sugar Determination, *Anal. Chem.*, 2003, **75**, 5191-5196.

[18] T. You, O. Niwa, M. Tomita, H. Ando, M. Suzuki, and S. Hirono, Characterization and electrochemical properties of highly dispersed copper oxide/hydroxide nanoparticles in graphite-like carbon films prepared by RF sputtering method, *Electrochem. Commun.*, 2002, **4**, 468-471.

- [19] G. Liu, and J. J. Gooding, An Interface Comprising Molecular Wires and Poly(ethylene glycol)Spacer Units Self-Assembled on Carbon Electrodes for Studies of Protein Electrochemistry, *Langmuir*, 2006, **22**, 7421-7430.
- [20] Y. Nagasaki, Construction of a densely poly(ethylene glycol)- chain-tethered surface and its performance, *Polymer Journal*, 2011, **43**, 949-958.
- [21] M. Bottini, N. Rosato, and N. Bottini, PEG-Modified Carbon Nanotubes in Biomedicine: Current Status and Challenges Ahead, *Biomacromolecules*, 2011, **12**, 3381-3393.
- [22] Y. Mori, S. Nagaoka, H. Takiuchi, T. Kikuchi, N. Noguchi, H. Tanzawa, and Y. Noishiki, A new antithrombogenic material with long polyethyleneoxide chains, *Trans. Am. Soc. Artif. Intern. Organs*, 1982, **28**, 459.
- [23] G. Gunkel, M. Weinhart, T. Becherer, R. Haag, and W. T. S. Huck, Effect of Polymer Brush Architecture on Antibiofouling Properties, *Biomacromolecules*, 2011, **12**, 4169-4172.
- [24] J. Wua, C. Zhao, R. Hu, W. Lin, Q. Wang, J. Zhao, S. M. Bilinovich, T. C. Leeper, L. Li, H. M. Cheung, S. Chen, and J. Zheng, Probing the weak interaction of proteins with neutral and zwitterionic antifouling polymers, *Acta Biomater.*, 2014, **10**, 751-760.
- [25] P. Hashemi, E. C. Dankoski, J. Petrovic, R. B. Keithley, and R. M. Wightman, Voltammetric Detection of 5-Hydroxytryptamine Release in the Rat Brain, *Anal. Chem.*, 2009, **81**, 9462-9471.
- [26] N. Sekioka, D. Kato, A. Ueda, T. Kamata, R. Kurita, S. Umemura, S. Hirono, and O. Niwa, Controllable electrode activities of nano-carbon films while maintaining surface flatness by electrochemical pretreatment, *Carbon*, 2008, **46**, 1918-1926.
- [27] T. Goto, T. Yasukawa, K. Kanda, S. Matsui, and Fumio Mizutani, Inhibition of Electrochemical Fouling against Biomolecules on a Diamond-Like Carbon Electrode, *Anal. Sci.*, 2011, **27**, 91-94.
- [28] Q. Xue, D. Kato, T. Kamata, S. Umemura, S. Hirono, and O. Niwa, Electron Cyclotron

Resonance-Sputtered Nanocarbon Film Electrode Compared with Diamond-Like Carbon and Glassy Carbon Electrodes as Regards Electrochemical Properties and Biomolecule Adsorption, *Jpn. J. Appl. Phys.*, 2012, **51**, 090124.

[29] J. Ozaki, S. Tanifuji, N. Kimura, A. Furuichi, and A. Oya, Enhancement of oxygen reduction activity by carbonization of furan resin in the presence of phthalocyanines, *Carbon*, 2006, **44**, 1298-1352.

[30] D. Guo, R. Shibuya, C. Akiba, S. Saji, T. Kondo, J. Nakamura, Active sites of nitrogen-doped carbon materials for oxygen reduction reaction clarified using model catalysts, *Science*, 2016, **351** (6271), 361-365.

[31] D. Hamblin, J. Qiu, L. Haubold, and G. M. Swain, The Performance of a Nitrogen-Containing Tetrahedral Amorphous Carbon Electrode in Flow Injections Analysis with Amperometric Detection, *Anal. Methods*, 2015, **7** (11), 4481-4485.

[32] T. Kamata, D. Kato, and O. Niwa, Electrochemical performance at sputter-deposited nanocarbon film with different surface nitrogen-containing groups, *Nanoscale*, 2019, **11**(21), 10239-10246.



## 第2章 神経伝達物質であるセロトニンの電気化学分析

### 2-1 背景と目的

セロトニンは神経伝達物質の一つであり脳内の他、脳内や小腸の粘膜に存在する。ドーパミンやノルアドレナリンのバランスをコントロールし、生体リズムや体温調節に関与する生体分子である。現在までに高速液体クロマトグラフィー (HPLC) 測定、電気泳動法、電気化学分析など様々な分析手法が報告されている[1-4]。セロトニンは電極上で図2-1のような電気化学反応が起こると報告されている[5]。

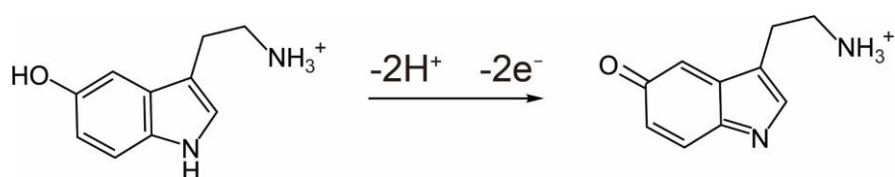


図2-1. セロトニンの電気化学反応

セロトニンの酸化反応後に生成する電解生成物が疎水的であることから電極表面に強く吸着する。そのため、セロトニンの繰り返し測定を行うことは困難である。そこで、本研究では超平坦なスパッタカーボン薄膜電極に①水蒸気、②アンモニア水、③アンモニアガスの雰囲気下でプラズマ処理を行い、それぞれ3種類の電極でセロトニンの繰り返しサイクリックボルタンメトリー (CV) 測定を行った。

また、セロトニンは生体内において必須アミノ酸のトリプトファンを基に以下の図2-2のように合成され、代謝される。

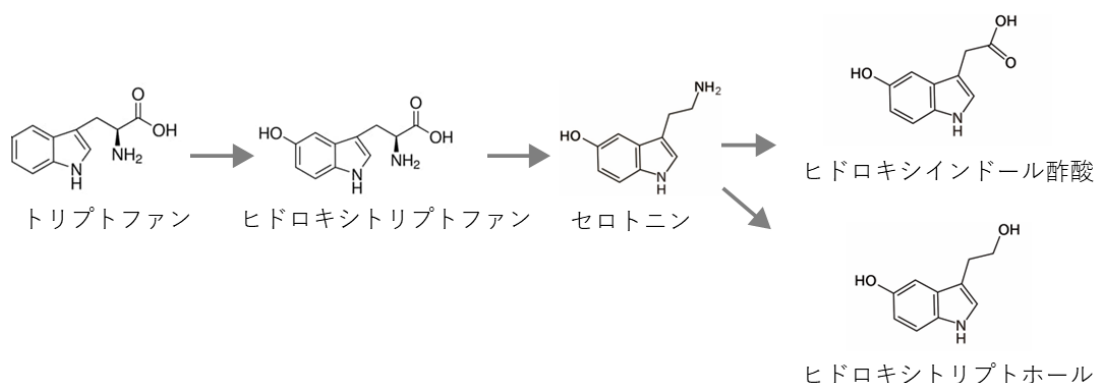


図2-2. トリプトファンを基にしたヒドロキシインドール酢酸への生合成過程

セロトニンからは 5-ヒドロキシインドールアセトアルデヒドを經由し（上図では省略）、5-ヒドロキシインドール酢酸（5-HIAA）が生成されるが、その一部は 5-ヒドロキシトリプトホール(5-HTOH)が生成される。セロトニンとヒドロキシインドール酢酸、ヒドロキシトリプトホールは構造が非常に似ており、側鎖がアミノ基、カルボキシ基、ヒドロキシ基の違いがあるためヒドロキシインドール酢酸およびヒドロキシトリプトホールの電気化学分析も行った。その電気化学応答からプラズマ処理電極と測定対象物間の官能基の影響について検討した。

## 2-2 実験

### 2-2-1 カーボン薄膜電極の作製

カーボン薄膜電極の作製にはアンバランスマグネトロン (UBM) スパッタ装置を使用した。装置の構造を図 2-3 に示す。UBM スパッタ装置は通常のマグネトロンスパッタ装置と比較し、永久磁石の S 極と N 極の強さを変えることによってカーボンターゲット近傍の磁場のバランスを崩し、非平衡磁場としている。そうすることでカーボンターゲット近傍に収束していたプラズマを、装置の上部に設置したシリコン (Si) 基板まで広げることができ、スパッタ中に基板へのイオン照射が可能になる。さらに、成膜を行う際にターゲットと基板の間にバイアスを印加した。それによりイオン照射のエネルギーを制御することができ、ナノカーボン薄膜の  $sp^2/sp^3$  比などの構造を制御することが可能になる。

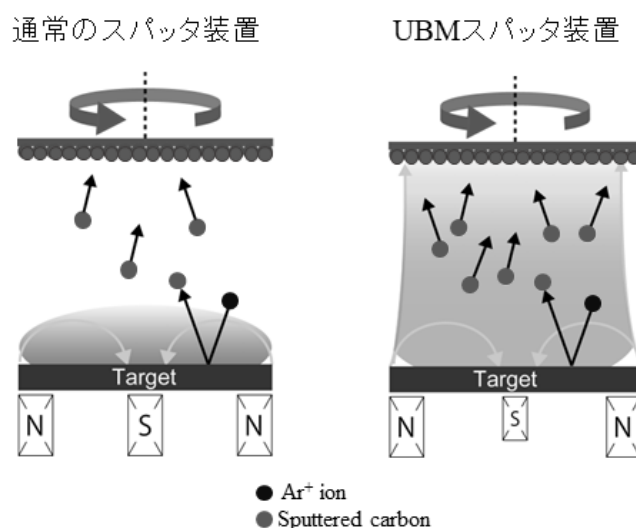


図 2-3. 通常のスパッタ装置 (左) と UBM スパッタ装置 (右) の模式図

カーボン薄膜の成膜条件は鎌田らの報告[6]を基に行った。3 インチの Si 基板を堆積チャンバー内に設置し、基板のシャッターを閉じた状態でアルゴン (Ar) ガスを流してチタンゲッターを行い、チャンバー内の酸素や水分を除去した。その後、室温で  $1.0 \times 10^{-6}$  Pa 以下の状態で  $6.0 \times 10^{-1}$  Pa の Ar ガスを流しながら、カーボンのターゲットパワーを 100 W に設定

し、ターゲットと基板間に-100 V のバイアスを印加した。この方法により、膜厚 40 nm、表面粗さ 0.17 nm のカーボン薄膜を成膜した。

## 2-2-2 プラズマ処理

矢嶋らの実験[7]を基に誘導結合型プラズマ装置で、得られたカーボン膜にプラズマ処理を施した。装置の模式図を図 2-4 に示す。プラズマ処理は①水（水蒸気： $\text{H}_2\text{O}$ ）プラズマ、②アンモニア水( $\text{NH}_3/\text{H}_2\text{O}$ )プラズマ、③アンモニアガス ( $\text{NH}_3$ ) プラズマ、の 3 種類の処理を行った。水蒸気のプラズマは試験管に超純水を入れ Ar ガスでバブリングを行い、プラズマチャンバー内に流すことで水蒸気ガス雰囲気下とした。プラズマ処理前の圧力は 35 Pa とし、13.65 MHz のラジオ波を誘電結合法により発生させたプラズマで 60 秒間処理を行った。アンモニア水プラズマはアンモニア濃度 10 w/v%のアンモニア水を使用し、水プラズマ処理の時と同様に Ar ガスでバブリングすることで、アンモニア水蒸気雰囲気下でプラズマ処理を行った。アンモニアガスのプラズマ処理では、Ar/ $\text{NH}_3$  (25.0%) の混合ガスを直接プラズマチャンバー内に送り、プラズマ処理を行った。

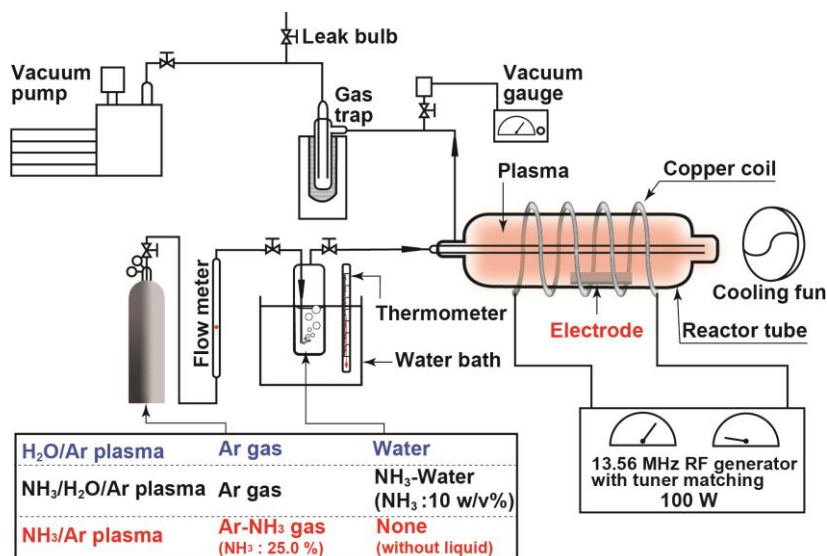


図 2-4. 誘導結合型プラズマ装置の模式図

## 2-3 結果及び考察

### 2-3-1 電極特性評価

プラズマ処理の前後で水滴接触角（LSE/ME3 モデル、株式会社ニック製）測定、および XPS（ESCA Quantum 2000 モデル、アルバック・ファイ株式会社製）測定を行った。その結果を表 2-1 に示す。

表 2-1. XPS による電極表面元素組成と接触角測定結果

	(a) untreated	(b) H <sub>2</sub> O plasma	(c) NH <sub>3</sub> plasma	(d) NH <sub>3</sub> /H <sub>2</sub> O plasma
C1s(%)	90.9	86.3	86.7	87.2
O1s(%)	5.9	10.8	5.6	6.8
N1s(%)	0.5	0.5	5.4	3.7
Ar2p(%)	2.5	1.8	1.9	1.7
Si2p(%)	0.2	0.6	0.4	0.6
N/C	0.0055	0.0058	0.062	0.042
N/O	0.085	0.046	0.96	0.54
Contact angle (degrees)	80 (±2)	13 (±7)	36 (±5)	46 (±8)

\* 接触角 5 回測定

XPS 測定の結果より、水プラズマ処理後は未処理よりも電極表面の酸素が 5%増加したことが明らかとなった。アンモニア水プラズマ処理後は未処理の膜と比較して約 1%程度、電極表面の酸素濃度が増加している。一方で、アンモニアガスプラズマ処理後は電極表面の酸素濃度は未処理の時と変わらず、窒素が 5.4%電極表面に導入されたことが明らかとなった。アンモニア水プラズマ処理では電極表面の窒素濃度は 3.7%であり、アンモニア水では酸素系官能基と窒素系官能基の両方が電極表面に導入されたことが示唆された。

水滴接触角の結果では、未処理の電極表面は 80 度であったのに対し、最も電極表面の酸素濃度が多い水プラズマ処理後は 13 度まで低下した。アンモニアガスプラズマ処理とアンモニア水プラズマ処理を比較すると、アンモニア水プラズマ処理の方が電極表面の酸素濃度が多いにも関わらず、接触角が大きい結果となった。これは複数回測定した中での平均値であり、アンモニア水プラズマ処理、アンモニアガスプラズマ処理共に 40 度前後になる傾向があり、あまり大きな差はないと考えられる。

### 2-3-2 セロトニンとその代謝物の電気化学分析

溶媒に使用する 0.1 M のリン酸緩衝液は 0.1 M の  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  と 0.1 M の  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  を攪拌しながら pH7.0 になるように混合し、調製した。この溶媒を用いて 100  $\mu\text{M}$  セロトニン溶液を調製した。電気化学測定は CH Instruments 製の電気化学アナライザー (ALS/CHI 720E および 1208B) を使用し、3 電極方式で測定を行った。また、電極表面には直径 2 mm の穴が開いた絶縁テープを貼り、全ての薄膜電極で見かけ上の面積が同じになるように規定した。参照電極には Ag/AgCl 電極、対向電極には白金巻き線を使用した。走査速度は 100 mV/s に設定し、5 分毎に CV を 5 回行った。CV の結果を図 2-5 に示す。

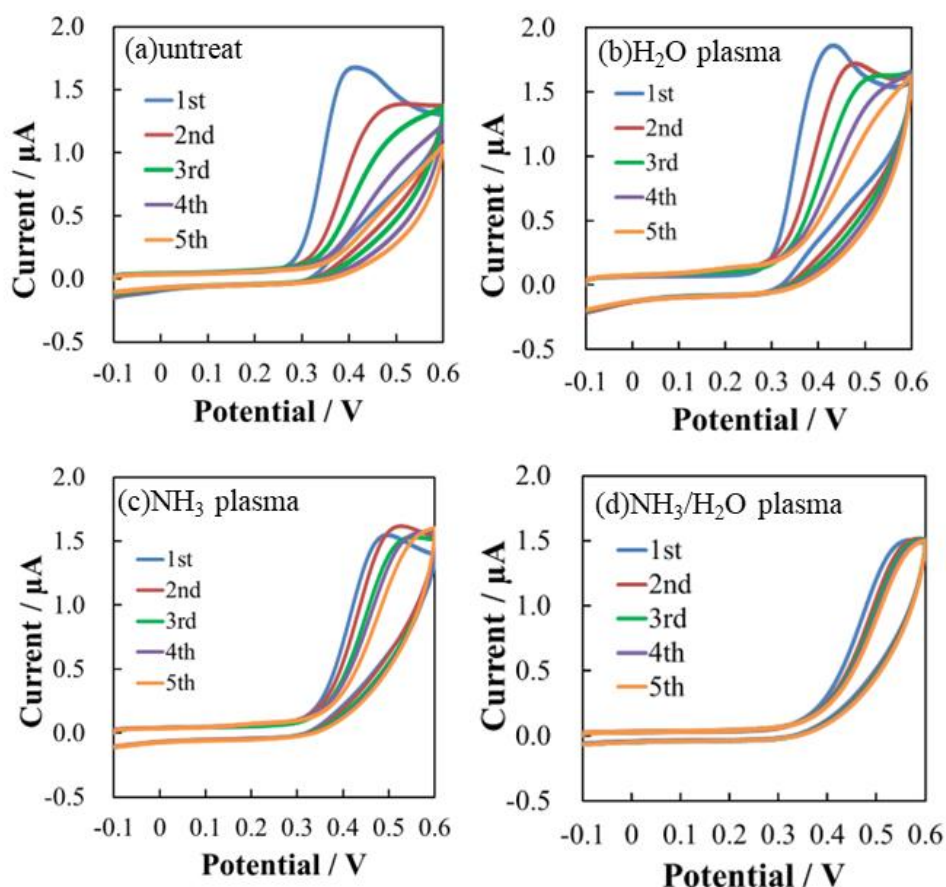


図 2-5. 各プラズマ処理電極の 5 分毎の 100  $\mu\text{M}$  セロトニン CV 測定結果

未処理電極では、測定回数が増加するごとに酸化ピーク電位が正側にシフトし、酸化ピーク電流値が低下した。このことから、セロトニンの電解生成物が電極表面に吸着していることが示唆された。その一方で、アンモニアガスプラズマ処理、アンモニア水プラズマ処理電極では測定回数が増加しても酸化ピーク電位の増加、ピーク電流値の減少はみられなかった。この結果からアンモニアを含むプラズマ処理電極ではセロトニンの電解生成物が吸着していないと考えられる。また、アンモニアを含むプラズマ処理では1回目の測定の段階で未処理電極と比較して、酸化ピーク電位が0.4 V から 0.5 V 付近にシフトしている。これは、プラズマ処理によって導入された窒素を含む官能基とセロトニンのアミノ基の部分で静電反発が生じ、過電圧が大きくなったと考えられる。5分毎のセロトニンの酸化ピーク電流値の減少を図 2-6 に示す。

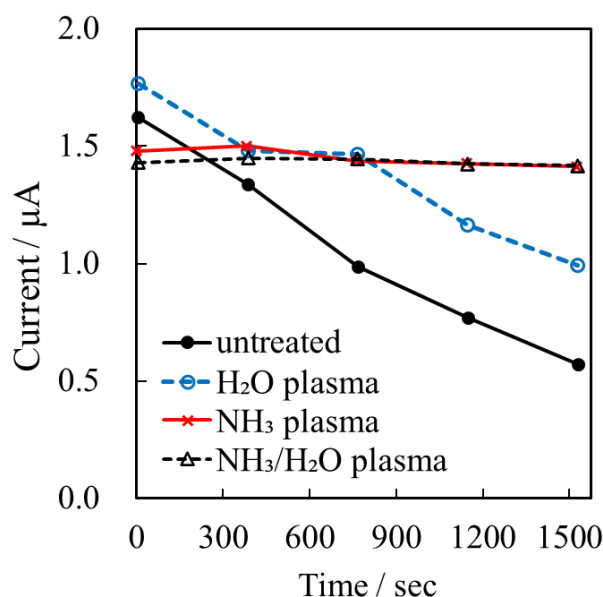


図 2-6. 5分毎のセロトニン酸化ピーク電流値の減少

アンモニアガスプラズマ処理、アンモニア水プラズマ処理電極では5回の測定で安定した電流値が得られた。1回目の測定では未処理電極よりもピーク電流値が小さいが、この部分でも窒素を含む官能基とセロトニンのアミノ基の部分で静電反発が原因と考えられる。一方で、水プラズマ処理電極では1回目の酸化ピーク電流値が最も大きいものの、測定回数が増加するごとに減少している。図 2-5 に示したように、CV でも、未処理電極と同様に測定の

回数が増加するごとに酸化ピーク電位が増加し、ピーク電流値の減少がみられた。この結果から、水プラズマ処理電極の電極表面にはセロトニンの電解生成物が吸着していると考えた。

電解生成物の吸着を確認する為、100  $\mu\text{M}$  のセロトニンの CV 測定を行った電極と同じ電極を使用し、内圏型の電気化学活性種である 1 mM のフェリシアニド： $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ の CV を行った（走査速度 100 mV/s）。フェリシアニドは内圏型反応種であるため、電極表面の汚染状態が影響しやすいことから、セロトニンの CV の前後でフェリシアニドの CV を行うことで電流値の減少とピークセパレーション ( $\Delta E$ ) の変化からセロトニンの電解生成物の吸着度合いを調べた。その CV 測定結果を図 2-7、 $\Delta E$  の変化量を表 2-2 に示す。



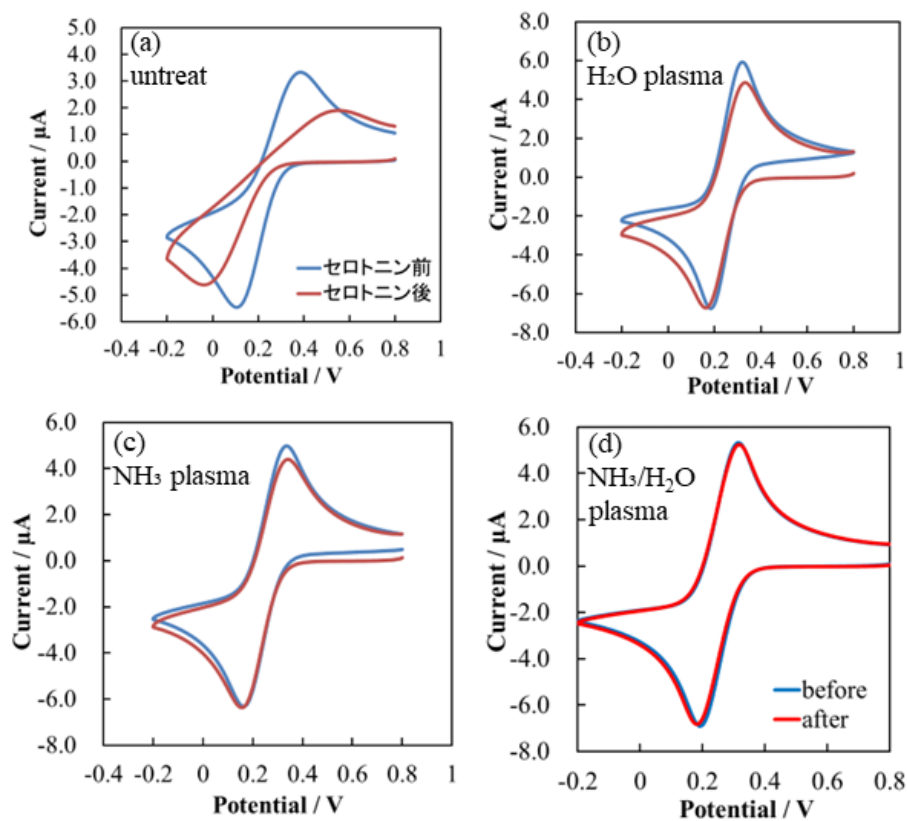


図 2-7. セロトニン CV 測定前後のフェリシアニド CV 測定結果

表 2-2. フェリシアニドの CV の電流値の減少量と $\Delta E$ の変化量

	(a) untreated	(b) H <sub>2</sub> O plasma	(c) NH <sub>3</sub> plasma	(d) NH <sub>3</sub> /H <sub>2</sub> O plasma
(1) before $\Delta E/V$	0.280	0.136	0.173	0.121
(2) after $\Delta E/V$	0.584	0.168	0.182	0.135
Increment of (1) and (2)/V	+0.304	+0.032	+0.009	+0.014
The ratio of peak current decreases/%	52.1	14.1	8.8	2.4

その結果、未処理の電極ではフェリシアニドの酸化ピーク電流値の減少は 52.1%、 $\Delta E$ の増加は 304 mV であり、セロトニンの測定前後でフェリシアニドの CV が大きく崩れた結果となった。このことから未処理電極ではセロトニンの電解生成物が多く吸着していることを確認した。その一方で、アンモニアガスプラズマ処理、アンモニア水プラズマ処理は電流値の減少およびピーク電位の増加は非常に少ないことからセロトニンの電解生成物の吸着を抑制できていることが示唆された。

アンモニアを含むプラズマ処理電極と比較して水プラズマ処理電極ではフェリシアニドの酸化ピーク電流値は 14%減少している。この結果と図 2-5、2-6 の 5 分毎のセロトニンの CV 挙動から、セロトニンの電解生成物の吸着抑制には電極表面の親水性だけでなく、表面電荷も重要な要素であると考えた。

そこで、セロトニンの測定において最も電流値の減少が少なく吸着抑制効果の高いアンモニア水プラズマ処理電極で側鎖の官能基が異なるセロトニンの代謝物の 5-ヒドロキシインドール酢酸(5-HIAA)、5-ヒドロキシトリプトホール(5-HTOH)の CV 測定を行い、電極表面の電荷の影響を調べた。セロトニンの測定時と同様に濃度は 100  $\mu\text{M}$  とし、pH7 のリン酸緩衝液中で、走査速度は 100 mV/s に設定し、5 分毎に 5 回測定を行った。その CV 測定結果を図 2-8 に示す。

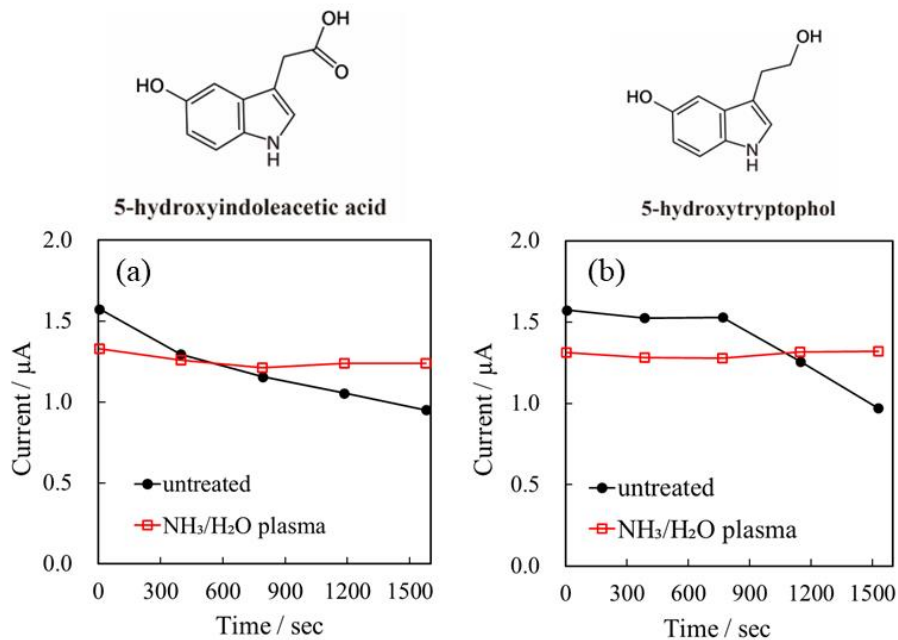


図 2-8. アンモニア水プラズマ処理電極の 5-ヒドロキシインドール酢酸、5-ヒドロキシトリプトホールの CV 測定結果

未処理の電極では、5-HIAA、5-HTOH 共にセロトニンの測定時と同様に、測定回数増加に伴い徐々に酸化ピークが減少している結果となった。しかしながら、アンモニア水プラズマ処理電極は 5 回の測定で安定した電流値が得られた。これはアンモニア水プラズマ処理では電極表面の窒素濃度だけでなく酸素濃度が増加していることから、酸素を含む官能基によって親水性、さらに負電荷の官能基によって 5-HIAA のカルボキシ基、5-HTOH のヒドロキシ基と反発が生じて安定した電流値が得られたと考えた。そこで、水プラズマ処理よりも親水性の高い UV/O<sub>3</sub> 処理を施した電極とも比較を行った。照射 UV/O<sub>3</sub> 処理（センエンジニアリング株式会社製、PL16-110 モデル）は照射強度 15 mW/cm<sup>2</sup>、光源と電極間の距離を 500  $\mu\text{m}$ 、照射時間は 5 分間とした。UV/O<sub>3</sub> 照射装置の写真と接触角測定の図を 2-9 に示す。

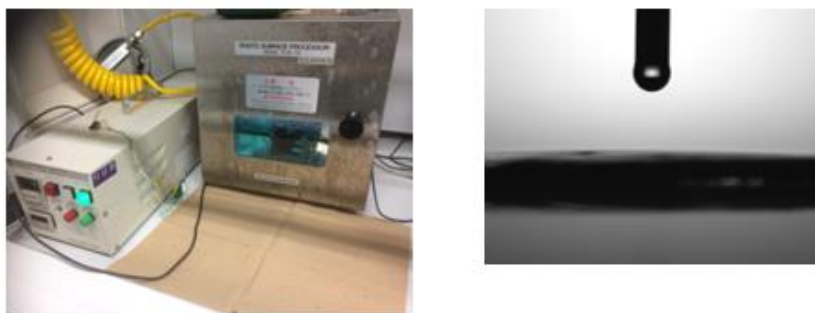


図 2-9. UV/O<sub>3</sub>装置と処理後の水滴接触角測定

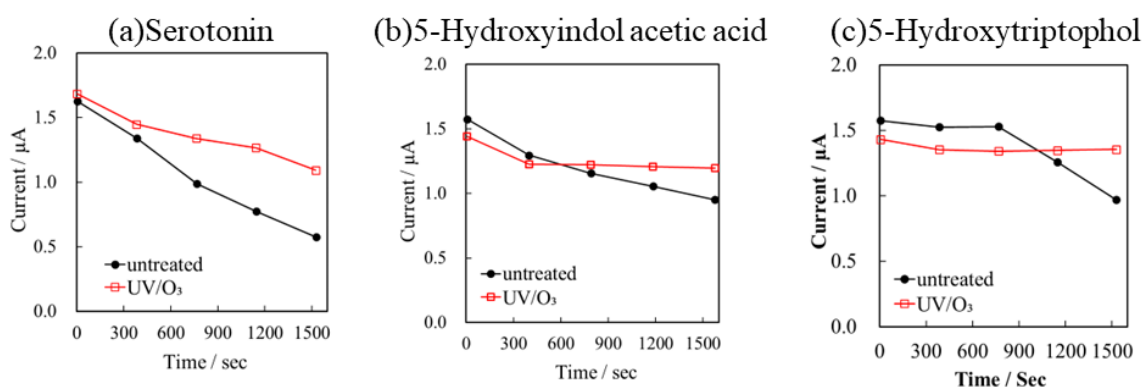


図 2-10. UV/O<sub>3</sub>処理電極のセロトニン、5-HIAA、5-HTOH の5分毎のCV測定時の電流値変化

UV/O<sub>3</sub>照射後は電極表面の酸素濃度は11.4%、水滴接触角は11度であり、極めて親水的な電極表面である。この電極で各プラズマ処理電極と同様にセロトニン、5-HIAA、5-HTOHのCV測定を5分毎に5回行った。その結果を図2-10に示す。

その結果、UV/O<sub>3</sub>処理電極では5-HIAA、5-HTOHの5分毎のCVの酸化ピーク電流値は比較的安定していた。このことから、5-HIAA、5-HTOHのCV測定には、酸素を含む官能基に由来した親水的な電極表面が吸着抑制に寄与していると考えられる。しかしながら、セロトニンの分析においては水プラズマ処理電極と同様に測定回数の増加ごとに電流値が低下している。したがって、セロトニンとその誘導体の疎水性低分子の電気化学分析には、親水性と電極表面の電荷-測定対象物間の静電反発の2つが吸着抑制に寄与していると考えられる。

## 2-4 第2章 結論

本項では UBM スパッタカーボン薄膜電極にアンモニアを含むガスの雰囲気下でプラズマ処理を施すことにより、電極表面に酸素と窒素を含む置換基で修飾した。窒素を含む親水的な電極になったことでセロトニンの電解生成物の吸着を抑制できることが可能であることを見出した。さらに、アンモニア水プラズマ処理電極でセロトニンの代謝物である 5-ヒドロキシインドール酢酸、5-ヒドロキシトリプトホールの電気化学分析においても安定した分析を行うことが可能であることを明らかにした。酸素末端の親水的な電極では代謝物の吸着は抑制できるが、アミノ基を有するセロトニンの電解生成物が吸着する為、親水化と表面電荷による静電反発が寄与していると考えられる[8]。

## 2-5 参考文献

- [1] G. E. D. Benedetto, D. Fico, A. Pennetta, C. Malitesta, G. Nicolardi, D. D. Lofrumento, F. D. Nuccio, and V. L. Pesa, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 2014, **98**, 266-270.
- [2] E. Pussard, N. Guigueno, O. Adam, and J-F. Giudicelli, Validation of HPLC-amperometric detection to measure serotonin in plasma, platelets, whole blood, and urine, *Clin. Chem.*, 1996, **42**(7), 1086-1091.
- [3] A. Roychoudhury, K. A. Francis, J. Patel, S. K. Jha, and S. Basu, A decoupler-free simple paper microchip capillary electrophoresis device for simultaneous detection of dopamine, epinephrine and serotonin, *RSC Adv.*, 2020, **10**, 25487-25495.
- [4] G-P. Jin, X-Q. Lin, and J. Gong, Novel choline and acetylcholine modified glassy carbon electrodes for simultaneous determination of dopamine, serotonin and ascorbic acid, *J. Electroanal. Chem.*, 2004, **569**, 135-142.
- [5] S. Sharma, N. Singh, V. Tomar, and R. Chandra, A review on electrochemical detection of serotonin based on surface modified electrodes, *Biosens. Bioelectron.*, 2018, **107**, 76-93.
- [6] T. Kamata, D. Kato, H. Ida, and O. Niwa, Structure and electrochemical characterization of carbon films formed by unbalanced magnetron (UBM) sputtering method, *Diamond & Related Mater.*, 2014, **49**, 25-32.
- [7] W. Hai, K. Shimizu, and T. Yajima, Preparation of a Super Hydrophilic Polytetrafluoroethylene Surface Using a Gaseous Ammonia-Water Low-Temperature Plasma, *J. Photopolym. Sci. Technol.*, 2015, **28**(3), 479-483.
- [8] S. Ohta, S. Shiba, T. Yajima, and O. Niwa, Plasma-Treated Sputtered Nanocarbon Film Electrodes for Suppressing Electrochemical Fouling by Serotonin, *Electrochemistry*, 2020, **88**(5), 387-391.

## 第3章 タンパク質存在下の電気化学分析

### 3-1 背景と目的

生体から検体を採取して生化学検査を行う場合、血液を用いた検査項目は非常に多い。採取された血液は「全血」とされ、その中には凝固因子が含まれていることから血管外へ出ると凝固してしまう。医療検査においては、全血に抗凝固剤を添加し、遠心分離をかけることで血球成分を除いた「血漿」あるいは、血液を凝固させて遠心分離をかけることでさらに血球成分と凝固因子を除いた「血清」に分けて検査を行う。しかしながら、血清中にはタンパク質や脂質などの分子量が大きく疎水的で電極表面に吸着しやすい分子が多量に含まれている。血清中には約 80 種類のタンパク質が含まれている。内訳としては主にアルブミンが約 60% (40~50 mg/mL)、グロブリンが約 20%含まれており、これらの分子が電気化学分析において電極の吸着汚染を引き起こすのは避けられない課題である。

水谷らは DLC 電極に酸素プラズマ処理を施すことにより 10 mg/mL のウシ血清アルブミン(BSA)を含む溶液中に浸漬した後もフェリシアニドの電気化学分析が安定であること、さらに DNA を含む溶液中に浸漬した後も安定した電気化学分析が行えることを報告している[1]。さらに、Xue らは電子サイクロトロン共鳴 (ECR) スパッタカーボン膜の親水化により 10 mg/mL のウシ血清アルブミン (BSA) 安定な電気化学測定が行えることを示した[2]。DLC や ECR スパッタカーボン電極は GC 電極と比較して電位窓が広く[2-3]、ダイヤモンド構造を含むことで表面処理を施した後も平坦性を維持しやすいのが利点である。本章では水プラズマ処理とアンモニアガスプラズマ処理を施した電極の、タンパク質存在下の電気化学分析について述べる。

## 3-2 実験

カーボン薄膜の成膜は、第 2 章で行った方法と同様に UBM スパッタ装置を使用した。3 インチの Si 基板を堆積チャンバー内に設置し、基板のシャッターを閉じた状態でアルゴン (Ar) ガスを流してチタンゲッターを行い、チャンバー内の酸素や水分を除去した。その後、室温で  $1.0 \times 10^{-6}$  Pa 以下の状態で Ar ガスを導入して  $6.0 \times 10^{-1}$  Pa とし、その後カーボンのターゲットパワーを 100 W に設定し、ターゲットと基板間に -100 V のバイアスを印加した。この方法により、膜厚 40 nm、表面粗さ 0.17 nm のカーボン薄膜を製膜した。

プラズマ処理は誘導結合型プラズマ装置を使用し、水プラズマ処理およびアンモニアガスプラズマ処理の 2 種類の処理を施した。図 3-1 にはプラズマ処理中の写真を示す。

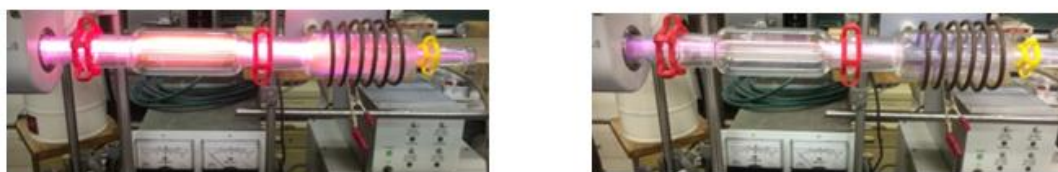


図 3-1. 水プラズマ処理 (左) およびアンモニアガスプラズマ処理 (右) の様子

電気化学測定では 1 M の塩化カリウム (KCl) 水溶液中で 1 mM のフェリシアニドの CV 測定を行った。その後、1 mM の溶液中に BSA を添加し、再度 CV 測定を行った。タンパク質の添加前後の CV の変化から BSA の吸着汚染度合いの評価を行った。第 2 章でも述べたようにフェリシアニドは内圏型の電気化学活性種であり、電極表面の状態に敏感であることが McCreery らによって報告されている [4]。そのため、BSA を添加した溶液中で 1 mM のフェリシアニドの CV 測定を行った後、電極表面を超純水で流してから再度 1 mM のフェリシアニドの CV 測定を行い、BSA 存在下のフェリシアニド測定との比較についても行った。測定は CH Instruments 製の電気化学アナライザー (ALS/CHI 720E および 1208B) を使用し、3 電極方式で測定を行った。参照電極には Ag/AgCl 電極、対向電極には白金巻き線を使用した。走査速度は 100 mV/s に設定した。



### 3-3 結果及び考察

#### 3-3-1 電極表面処理後の置換基の解析

プラズマ処理前後の電極の XPS 測定と水滴接触角測定を行った結果を図 3-2 に示す。

XPS 測定の Wide scan の結果からアンモニアガスプラズマ処理電極では窒素原子の明瞭なピークを確認した。元素組成については以下の表 3-1 に示す。

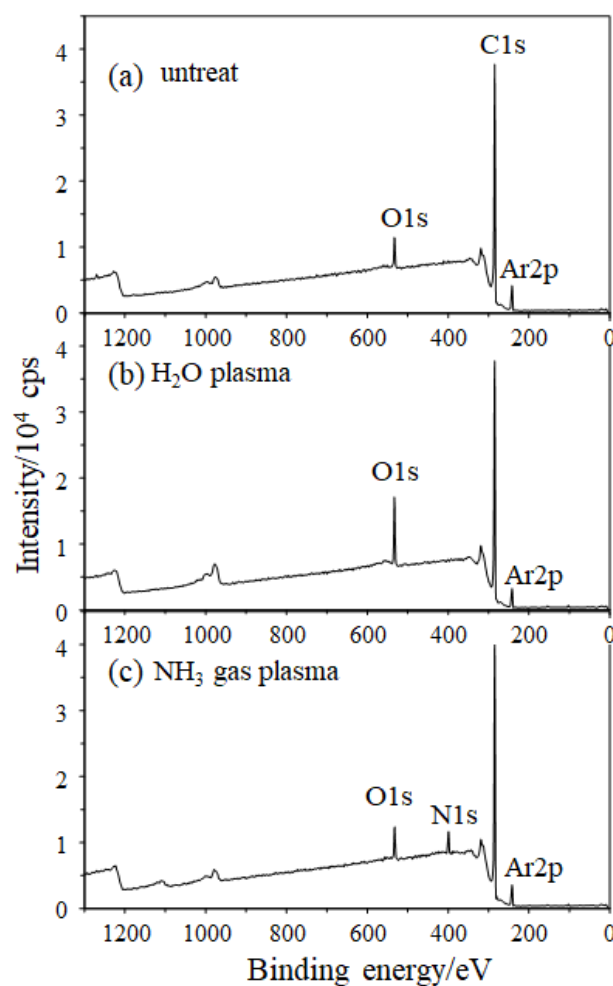


図 3-2. XPS のワイド測定による電極表面の元素組成分析

表 3-1. 水接触角測定の結果と電極表面の元素組成

	untreat	H <sub>2</sub> O plasma	NH <sub>3</sub> plasma
Contact angle (deg)	74	26	42
C1s (%)	94.9	90.1	90.6
O1s (%)	5.1	9.9	4.5
N1s (%)	0	0	4.9
N/C	0	0	0.054
N/O	0	0	1.089
c - c sp <sup>2</sup> (%)	28.3	18.3	26.8
c - c sp <sup>3</sup> (%)	4.6	6.1	3.3

水プラズマ処理電極では未処理電極と比較して表面の酸素濃度が 4.8%増加、アンモニアガスプラズマ処理電極では酸素濃度が 4.5%で、未処理の電極とあまり変わらず、窒素原子は 4.9%導入されたことが明らかとなった。さらに、Narrow scan 測定を行った結果から波形分離を行い、導入された置換基の種類を調べた。結果を表 3-2 に示す。

表 3-2. プラズマ処理によって導入された各酸素置換基の割合

Component No.	Chemical state	B. E./eV	FWHM/eV	Atomic composition/%		
				untreat	H <sub>2</sub> O plasma	NH <sub>3</sub> plasma
1"	N-C=O*	531.2	1.7	4.8	1.5	22.7
2"	O-C=O*	531.8	1.7	40.3	34.4	25.2
3"	C-O*H	532.6	1.7	43.6	58.0	47.9
4"	C-O*-C	533.4	1.7	11.3	6.1	4.2
Total				100.0	100.0	100.0

解析した結果から、水プラズマ処理はヒドロキシ基が多く、58.0%導入されていることが明らかとなり、この結果から水滴接触角が 26 度まで減少し親水的な電極表面になったと考えられる。アンモニアガスプラズマ処理後はヒドロキシ基が 47.9%に対し、窒素原子または酸素原子と結合したカルボニル基が 47.9%であり、ヒドロキシ基とカルボニル基が 1:1 で導

入されたことが明らかとなった。

さらにアンモニアガスプラズマ処理電極については電極表面の窒素のピーク (N 1s) についても波形分離を行い、置換基の種類を調べた。

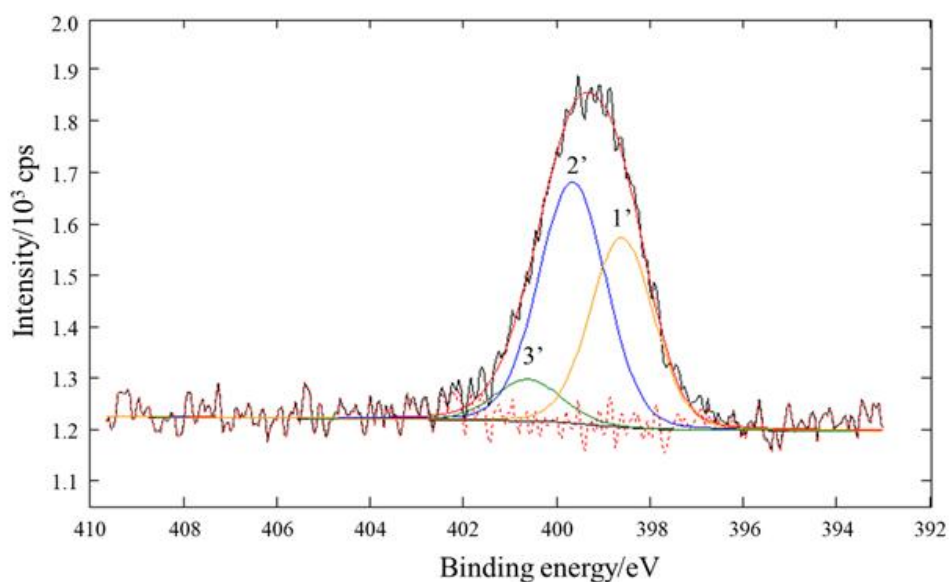


図 3-3. アンモニアガスプラズマ処理電極の窒素の波形分離

図 3-3、表 3-3 に示すように波形分離の結果から電極表面はアミノ基が多く導入されたことが明らかとなった。水滴接触角の測定結果と波形分離の結果から、アンモニアガスプラズマ処理電極の表面はアミノ基由来で親水的かつ正電荷を帯びていると考えられる。

表 3-3. アンモニアガスプラズマ処理電極の窒素系置換基の割合

No.	Chemical state	B. E./eV	FWHM/eV	Atomic composition/%
1	NH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -	398.6	1.6	38.8
2	NH <sub>2</sub> -	399.66	1.7	52.3
3	O=C-NH <sub>2</sub>	400.6	1.7	8.9
Total				100

### 3-3-2 タンパク質(BSA)添加前後のフェリシアニドの電気化学分析

まず、プラズマ処理の前後で 1 mM のフェリシアニドの CV 測定を行った。第 2 章の実験と同様に、参照電極は Ag/AgCl 電極、対向電極には白金巻き線を使用した。その結果を図 3-4 に示す。

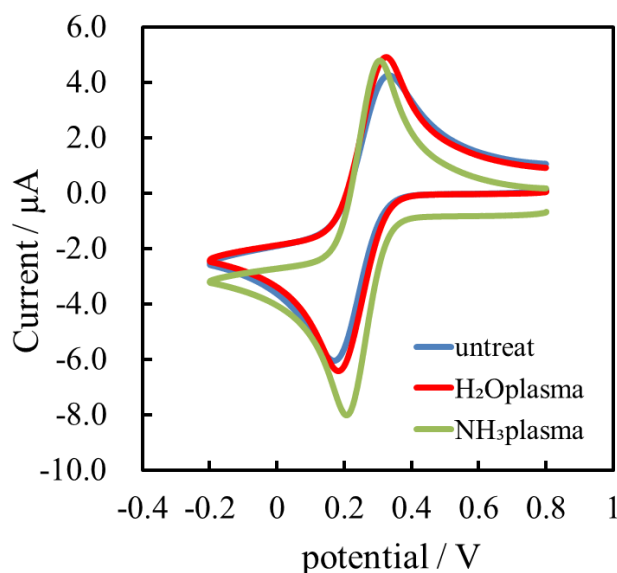


図 3-4. プラズマ処理電極の 1 mM  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$  の CV 測定結果

未処理の薄膜電極ではフェリシアニド測定の $\Delta E$ は 162 mV であったのに対し、水プラズマ処理電極では 143 mV、アンモニアガスプラズマ処理電極では 101 mV であった。アンモニアガスプラズマ処理によってフェリシアニドの $\Delta E$  が最も小さくなっている。これは電極表面に導入された、正電荷である窒素を含む置換基と負電荷のフェリシアニドの静電相互作用が要因であると考えられ、XPS の波形分離を行った結果、アミノ基が多く導入されていたことと一致する。ナノカーボン薄膜電極表面に窒素を導入することで $\Delta E$  が小さくなることは、これまでに ta-C の DLC 電極に窒素ドーピングを行ってきた Swain らの報告[5]、鎌田らの報告[6-7]とも一致している。

この実験によりアンモニアガスプラズマ処理によって電極表面をアミノ基で修飾することで UBM カーボン薄膜電極の電気化学活性が向上したことを確認した。

しかしながら、ナノカーボン薄膜の窒素官能基は多いほど電極活性が向上するわけではな

く、窒素の導入量が 10%以上になると $\Delta E$ が大きくなる[8]。これは窒素の導入量が多くなりすぎるとナノカーボン薄膜の構造が損なわれ、導電性の低下や膜に含まれるグラファイトのエッジ面の減少によって生じると考えられる。

さらに、図 3-5 に示すように、0.1 M の過塩素酸 ( $\text{HClO}_4$ ) 中で 1 mM の塩化鉄 (II) 四水和物 ( $\text{Fe}^{2+/3+}$ ) の測定を行った。McCreery らの報告[4]によって  $\text{Fe}^{2+/3+}$  錯体は電極表面の酸素の置換基に敏感であるとされている。

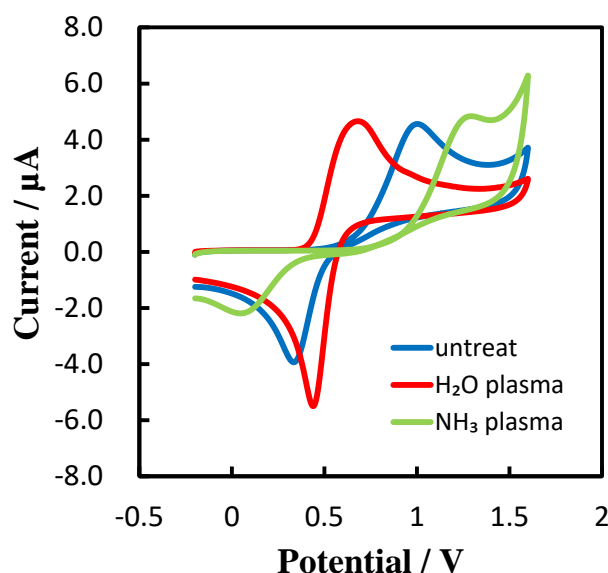


図 3-5. 各プラズマ処理電極の  $\text{Fe}^{2+/3+}$  の CV 測定結果

その結果、電極表面の酸素濃度が最も少ないアンモニアガスプラズマ処理電極の $\Delta E$ は大きく、水プラズマ処理電極の $\Delta E$ は小さいことを確認した。これは上田らの報告[9]の、UV/ $\text{O}_3$ 照射した親水的な電極の  $\text{Fe}^{2+/3+}$  錯体の測定とも一致している。次に水プラズマ処理、アンモニアガスプラズマ処理電極で 1 mM のフェリシアニド溶液に 100 mg/mL の BSA を添加し CV 測定を行った。結果を図 3-6 に示す。

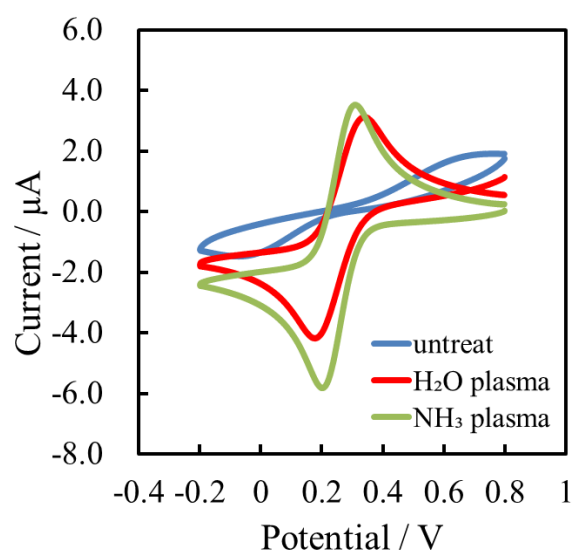


図 3-6. プラズマ処理電極の 100 mg/mL BSA 存在下のフェリシアニド CV 測定結果

未処理電極ではタンパク質添加後、 $\Delta E$ は 843 mV に大幅に増加し、酸化還元ピーク電流値は大きく低下したことから電極表面がタンパク質の吸着により汚染されたと考えた。その一方で、プラズマ処理電極ではタンパク質添加後もフェリシアニドの酸化還元反応の明瞭なピークが得られた。 $\Delta E$ の増加は、水プラズマ処理電極で 163 mV、アンモニアガスプラズマ処理電極で 108 mV であり、特にアンモニアガスプラズマ処理電極では $\Delta E$ の増加がほとんどみられなかった。この結果から、アンモニアガスプラズマ処理電極は BSA の吸着汚染抑制効果が高いと考えられる。

この測定後、電極表面を超純水で流し、軽く洗浄したのち、再度 1 mM のフェリシアニド溶液に戻して電気化学測定を行った。

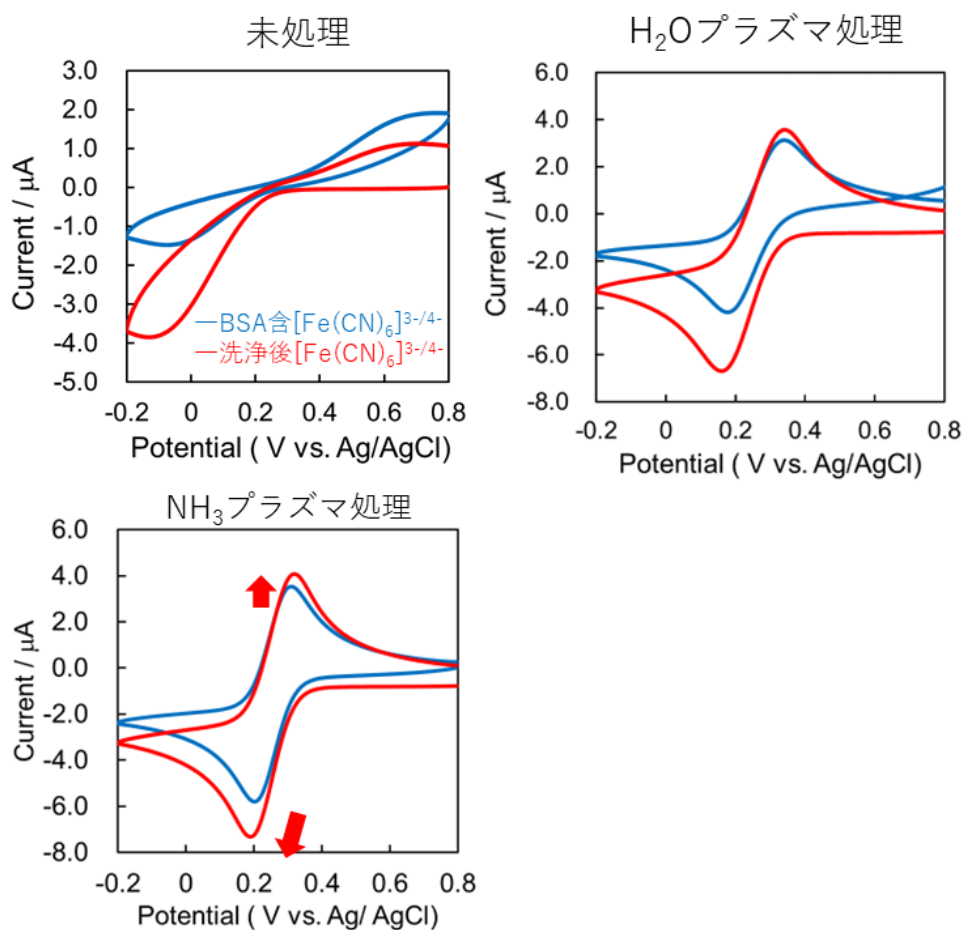


図 3-7. BSA 入りフェリシアニド測定後再度行った  
1 mM フェリシアニドのみの CV 測定

BSA 入りのフェリシアニドの水溶液を洗浄後の 1 mM フェリシアニドの CV 測定を行った結果、未処理電極の CV はタンパク質存在下の時と同様に大きく崩れたままであったが、プラズマ処理電極では電極表面を超純水で流すだけでも電流値が回復した。この結果から、100 mg/mL の高濃度な BSA 存在下でも水プラズマ処理電極、アンモニアガスプラズマ処理電極は吸着汚染抑制に優れており、BSA は弱く吸着して簡単に脱離すると考えられる。

次に、BSA の添加量を 1 mg/mL、10 mg/mL、50 mg/mL に変更し、同様にフェリシアニドの測定を行った。まず、 $\Delta E$  の変化について図 3-8 に示す。

未処理の電極では BSA の添加量が 10 mg/mL でも  $\Delta E$  が大幅に増加する傾向がみられた。

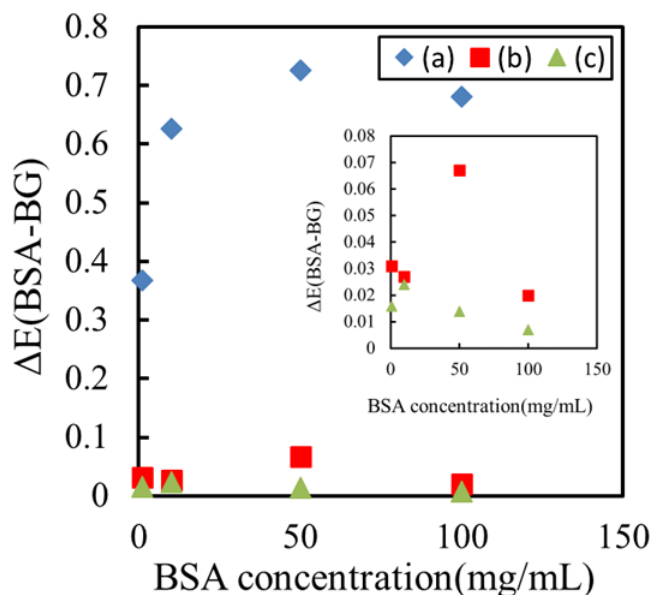


図 3-8. BSA の添加量を変えた時の  $\Delta E$  の変化量

(a)未処理電極、(b)水プラズマ処理電極、(c)アンモニアガスプラズマ処理電極

しかしながら、アンモニアガスプラズマ処理電極では  $\Delta E$  の増加が極めて少なく、吸着汚染の抑制効果が高いとみられる。

さらにこの測定時の電流値の減少の結果を図 3-9 に示す。



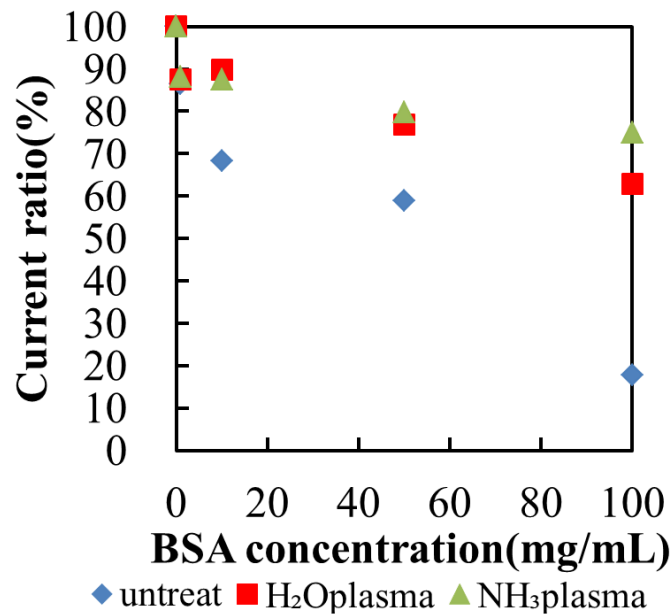


図 3-9. BSA 添加量を変えた時の電流値減少率

この結果から、アンモニアガスプラズマ処理電極では BSA の添加濃度を多くしても電流値の減少は極めて少ないことが明らかとなった。BSA を 100 mg/mL 添加した時、BSA を添加していないときの電流値を 100%として減少率を算出した結果、未処理の電極では 17.7%まで低下したのに対し、アンモニアガスプラズマ処理電極では 74.9%であり高い電流値を維持していた。 $\Delta E$  の増加は非常に少ないことから、僅かな電流値の減少にはタンパク質を加えたことによる粘性が影響していると考えられる。

BSA の等電点は 4.9 であり、この実験に用いた溶媒の 1 M の KCl 水溶液は pH6 なので恐らく BSA は負電荷に帯電していることが予想される。それにも関わらず、最も親水的かつ負電荷の電極表面と考えられる水プラズマ処理電極よりもアンモニアガスプラズマ処理電極の方が高濃度タンパク質存在下でも  $\Delta E$  が小さい。この要因として親水的な電極表面であることに加え、負電荷であるフェリシアニドとアンモニアガスプラズマ処理電極表面のアミノ基の静電相互作用の両方が関与していると考えられる。

### 3-3-3 血清濃度のタンパク質存在下のフェリシアニドの電気化学分析

3-3-2 項でアンモニアガスプラズマ処理電極は 100 mg/mL の高濃度なアルブミン存在下でも高い吸着抑制効果があることを示した。3-1 項（第 3 章 緒言）で記述したが、血清中のアルブミン濃度は 40~50 mg/mL、グロブリン濃度は 8.7~17 mg/mL であり、検体中にはグロブリンも高濃度に含まれている。本項ではヒト血清アルブミンと  $\gamma$ -グロブリンを血清濃度添加した、1 mM のフェリシアニド溶液中で CV 測定を行った。CV 測定は 3-3-2 項と同様に、まず 1 mM フェリシアニドの CV 測定を行った後、50 mg/mL のヒト血清アルブミンと 15 mg/mL の  $\gamma$ -グロブリンを添加した。血清濃度のタンパク質添加前後の CV を図 3-10 に示す。

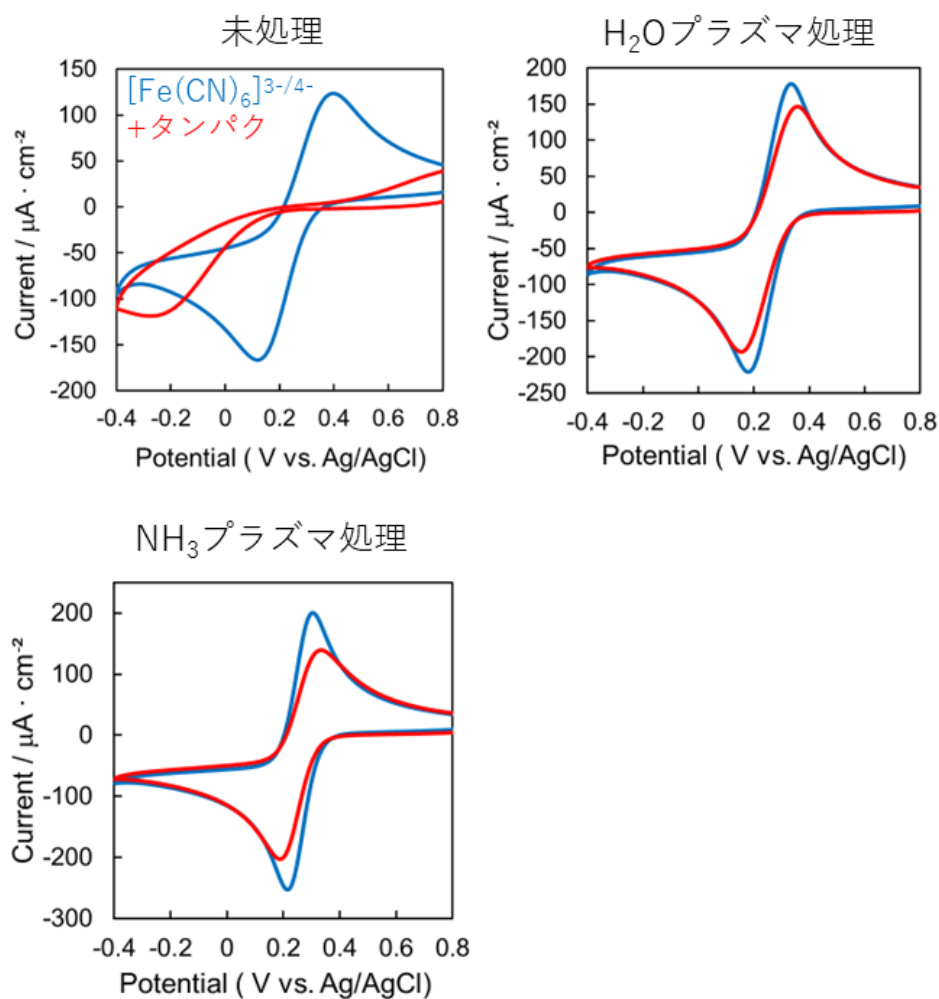


図 3-10. 血清タンパク質添加前後の 1 mM フェリシアニド CV 測定

未処理の電極ではフェリシアニドのみの測定で $\Delta E$ が214 mVであったが血清濃度のタンパク質添加後は酸化ピークが検出不可になった。しかしながら、水プラズマ処理電極ではタンパク質の添加前後で $\Delta E$ の増加は155 mVから201 mV、アンモニアガスプラズマ処理電極では88 mVから144 mVになり、それぞれ46 mV、56 mVの増加に留めることができた。興味深いのは、タンパク質添加後の $\Delta E$ が最も小さいのはアンモニアガスプラズマ処理電極であるが、 $\Delta E$ の増加が最も少ないのは水プラズマ処理電極である。これは、ヒト血清アルブミンの分子量は約6万6千に対し、 $\gamma$ -グロブリンの分子量は約15万であることから $\gamma$ -グロブリンの方がアルブミンよりも分子量が大きく、より疎水的な分子であり、最も親水的な水プラズマ処理電極の方が $\gamma$ -グロブリンの吸着の抑制に効果的だと考えられる。

#### 3-3-4 血清タンパク質存在下と同粘度のエチレングリコール存在下のフェリシアニドの電気化学分析

水プラズマ処理電極、アンモニアガスプラズマ処理電極は未処理電極と比較して血清タンパク質存在下のフェリシアニド CV 測定でも血清タンパク質の吸着抑制が可能であることを示したが、3-3-2 項の図 3-9 と同様に酸化還元電流値の僅かな減少がみられた。 $\Delta E$ の増加量はあまり大きくないにも関わらず電流値が減少していることから、タンパク質を加えたことによって測定溶液中の粘性が高くなったことが起因していると考えられる。そこで、電極表面に吸着せず、粘性の高い溶媒であるエチレングリコールを少しずつ添加していき、測定溶液の粘度を血清タンパク質存在下と同程度に揃えることで、溶液の粘性が電気化学測定に与える影響について調べることができると考えた。

実験手順はまず、粘度計を用いて血清タンパク質存在下の水溶液の粘度の測定を行った。粘度計はエー・アンド・デイ株式会社製（型番：SV-10）を使用し、室温で血清タンパク質を含む水溶液の粘度を調べた結果、1.18 mPa·sであった。この値と近くなるように、1 M の KCl 水溶液（粘度：0.95 mPa·s）にエチレングリコールを添加していったところ、8.0 v/v%

添加したところで 1.17 mPa·s になり、血清タンパク質存在下の 1 M KCl 水溶液とほぼ同じ粘度に調製することができた。調製したエチレングリコールを含むフェリシアニドの CV 測定を行い、フェリシアニドのみの CV 測定、エチレングリコール存在下のフェリシアニドの CV 測定、血清タンパク質添加後のフェリシアニドの CV 測定から電気化学挙動について比較した。参照電極に Ag/AgCl 電極、対向電極には白金巻き線を使用し、走査速度は 100 mV/s に設定した。CV 測定の結果を図 3-11 に示す。

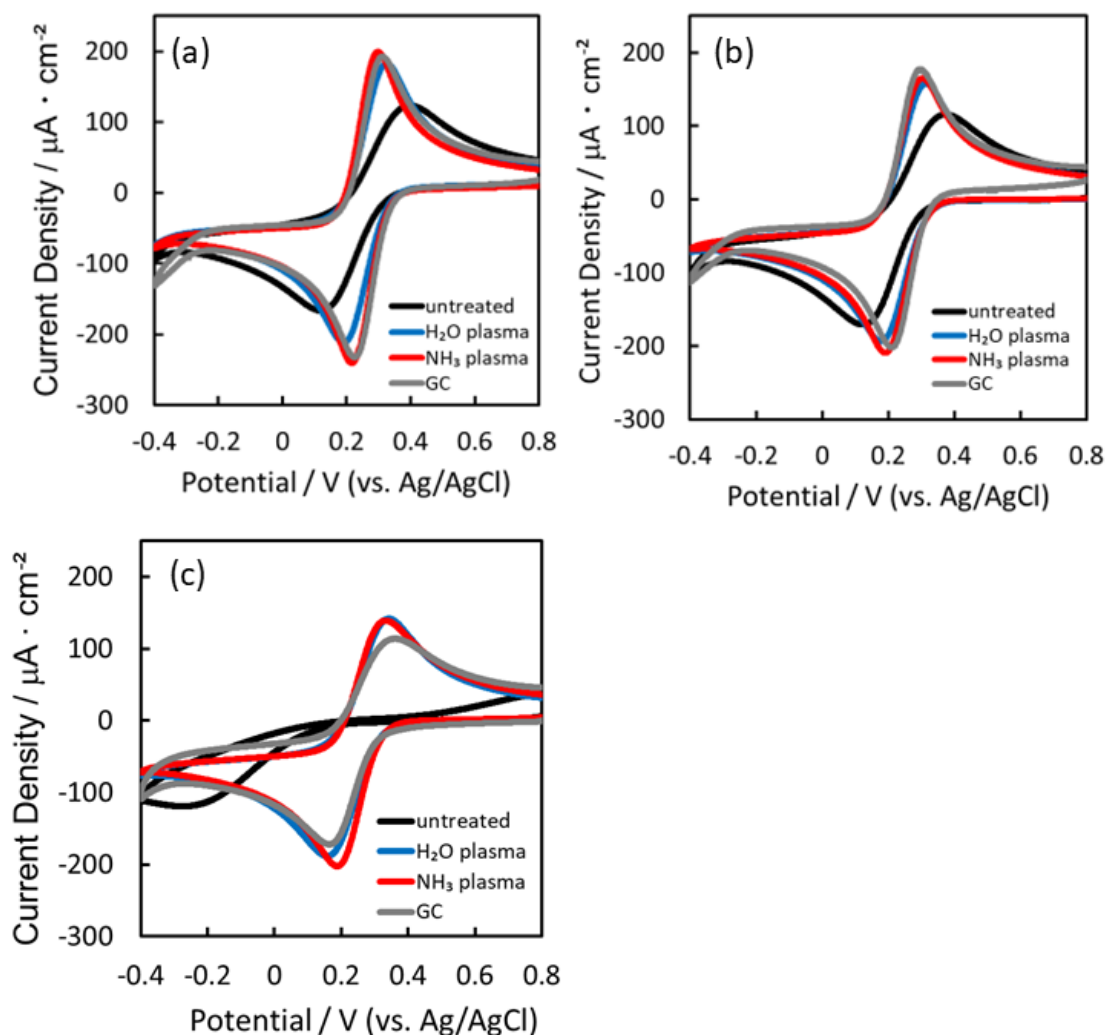


図 3-11. (a)1 mM フェリシアニドのみの CV 測定結果、  
 (b)8 v/v%エチレングリコール存在下の 1 mM フェリシアニド CV 測定結果、  
 (c)血清タンパク質存在下の 1 mM フェリシアニド CV 測定結果

(b)のエチレングリコール存在下のフェリシアニドの CV 測定では、(c)の血清タンパク質存在下のフェリシアニド CV 測定と比較し、未処理電極でもフェリシアニドの明瞭な酸化還元ピークを確認した為、血清タンパク質とは異なり電極表面への吸着汚染は生じていないことを確認した。また、還元ピーク電流値に着目すると血清タンパク質存在下の電流値とエチレングリコール存在下の還元ピーク電流値は約-200  $\mu\text{A}/\text{cm}^2$  であり同程度の電流値が得られたことが明らかとなった。さらに、フェリシアニドのみの CV 測定、血清タンパク質存在下のフェリシアニド CV 測定、エチレングリコール存在下の CV 測定の $\Delta E$ を算出した結果を以下の表 3-4 に示す。

表 3-4. 血清タンパク質添加後、エチレングリコール添加後の  
フェリシアニド CV 測定の $\Delta E$ の変化量

	Peak separation ( $\Delta E$ /V)		
	$[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$	$[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ with 8 v/v% ethylene glycol	$[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ with serum proteins
GC	0.085	0.089	0.191
untreated	0.214	0.311	-
H <sub>2</sub> O plasma	0.133	0.137	0.181
NH <sub>3</sub> plasma	0.088	0.100	0.144

この結果からも、GC 電極、水プラズマ処理電極、アンモニアガスプラズマ処理電極によるエチレングリコール存在下の CV 測定はフェリシアニドのみの CV 測定と比較して、 $\Delta E$ の変化はあまりみられなかった。一方で、未処理電極ではエチレングリコール存在下の測定で $\Delta E$ が約 100 mV 増加しているが、酸化還元反応が起こり始める電位はフェリシアニド溶液のみの測定とあまり変化がない。還元ピークの電流値の下がり方、酸化ピークの上がり方に注目すると、フェリシアニドのみの溶液と比較して緩やかになっており、走査速度を 100 mV/s より遅くすると $\Delta E$ の値はエチレングリコールを添加する前後であまり変化がない為、エチレングリコールの吸着ではないと考えられる。水プラズマ処理電極及びプラズマ処理電極では走査速度を 100 mV/s に設定して測定を行った場合、血清タンパク質の吸着の抑制が可能であることに加え、エチレングリコールの電極表面への吸着挙動がみられないことから、走査速度を変更した時の $\Delta E$ の値の変化についても検討した。

この実験では、全ての電極を使用した測定において1枚の電極で走査速度を変更して5分毎に測定を行った。走査速度は10 mV/s、25 mV/s、50 mV/s、75 mV/s、100 mV/sの順番で5分毎に測定を行った。その結果を図3-12に示す。

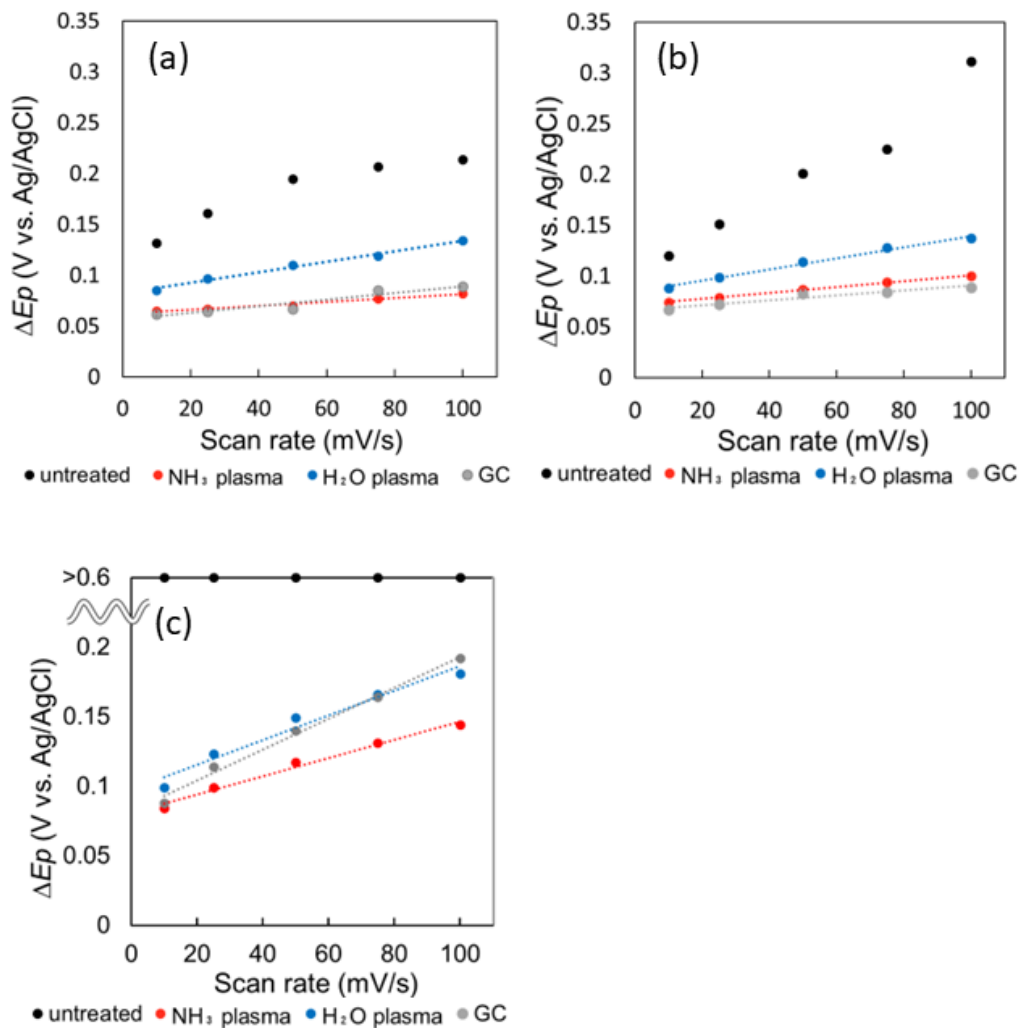


図3-12.  $\Delta E$  の増加と走査速度依存性；(a)フェリシアニドのみ CV 測定結果、  
(b)エチレングリコール存在下のフェリシアニド CV 測定結果、  
(c)血清タンパク質存在下のフェリシアニド CV 測定結果

$\Delta E$  と走査速度依存性を検討した結果、GC 電極、水プラズマ処理電極、アンモニアガスプラズマ処理電極は全ての測定溶液中で走査速度を変更して測定しても水プラズマ処理電極では  $R^2=0.92$ 、アンモニアガスプラズマ処理電極では  $R^2=0.96$  以上の値になり、直線性が得

られ、1枚の電極で繰り返しの測定を行っても安定した電気化学測定が行えることが明らかとなった。フェリシアニドのみの CV 測定、エチレングリコール存在下のフェリシアニド CV 測定、血清タンパク質存在下の CV 測定の結果で直線の傾きが最も小さいのはアンモニアガスプラズマ処理電極であり連続測定を行っても  $\Delta E$  の増加が少ないことが示唆された。さらに、血清タンパク質存在下の酸化還元ピーク電流値と走査速度依存性の関係についても検討を行い、走査速度の平方根に対する電流値をプロットしたグラフを図の 3-13 に示す。

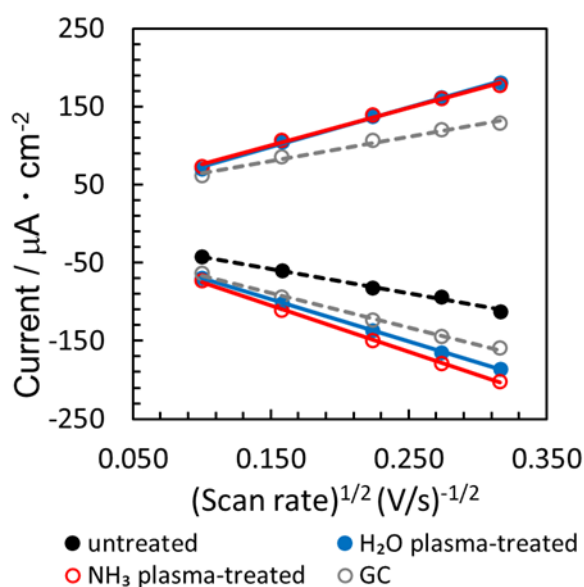


図 3-13. 血清タンパク質存在下のフェリシアニドの酸化還元ピーク電流値と走査速度の関係

水プラズマ処理電極、アンモニアガスプラズマ処理電極は傾きが小さく、GC 電極や未処理の電極よりも電流値の減少が少ないことがわかる。また、水プラズマ処理電極、アンモニアガスプラズマ処理電極ともに、酸化反応と還元反応の両方で  $R^2=0.994$  以上であり、非常に直線性が良い。走査速度の平方根と電流値のプロットで直線性を示すことからタンパク質存在下の測定でもフェリシアニドは拡散律速反応であることが明らかとなった。エチレングリコール存在下のフェリシアニドの測定も同様に、走査速度の平方根と電流値のプロットで直線性が良いことを確認している。血清タンパク質存在下の測定、エチレングリコール存在下の測定ともに拡散律速反応であるため、コットレルの式(1)から図 3-13 のグラフの傾きを

用いて拡散係数： $D$  ( $\text{cm}^2/\text{s}$ ) を求めることができる。

$$I_p = 2.69 \times 10^5 n^{3/2} A D^{1/2} \nu^{1/2} C \quad \text{式(1)}$$

$n$ は反応電子数（フェリシアニドの場合は $n=1$ ）、 $A$  は電極面積 ( $\text{cm}^2$ ：電極の直径を 2 mm に規定して実験を行った)、 $C$  はフェリシアニドの濃度 ( $\text{mol}/\text{cm}^3$ ) である。(1) 式から GC 電極、未処理薄膜電極、プラズマ処理電極を用いたフェリシアニドの測定、エチレングリコール存在下のフェリシアニドの測定、血清タンパク質存在下のフェリシアニドの測定のそれぞれの実験で拡散係数  $D$  を算出した。その結果を以下の図 3-14 に示す。

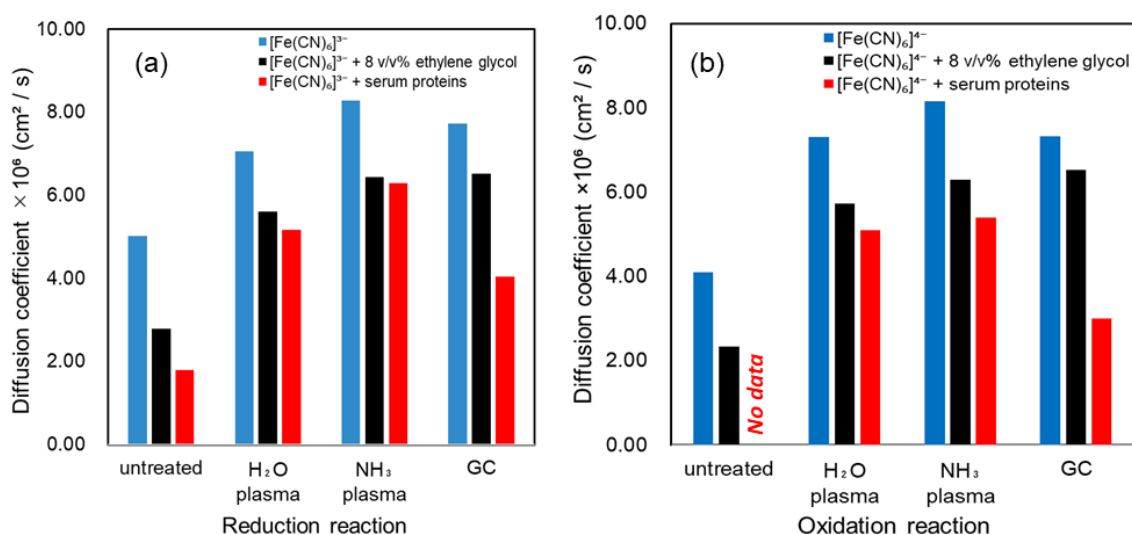


図 3-14. 各薄膜電極及び GC 電極によって測定、算出したフェリシアニドの拡散係数

(a)還元反応、(b)酸化反応

フェリシアニドのみの測定において、GC 電極と水プラズマ処理電極では既報[10]の値(酸化： $6.3 \times 10^{-6} \text{ cm}^2/\text{s}$ 、還元： $7.6 \times 10^{-6} \text{ cm}^2/\text{s}$ )に近く、酸化還元反応ともに  $7.0 \sim 7.7 \times 10^{-6} \text{ cm}^2/\text{s}$  であることがわかった。アンモニアガスプラズマ処理電極ではフェリシアニドのみの測定で  $8.3 \times 10^{-6} \text{ cm}^2/\text{s}$  であり、数値が大きくなった。これは、アンモニアガスプラズマ処理電極には電極表面に正電荷であるアミノ基が導入されていることで、負電荷であるフェリシアニドとの間に静電相互作用が生じ、電位の掃引速度が遅い実験ではこの影響が大きいため走査速度依存性から算出すると大きな値になったと考えられる。一方で、エチレングリコ



ール存在下のフェリシアニドの測定において、プラズマ処理電極を用いて拡散係数を算出した場合、水プラズマ処理電極では酸化還元ともに約  $5.6 \times 10^{-6} \text{ cm}^2/\text{s}$ 、アンモニアガスプラズマ処理電極では酸化還元ともに約  $6.5 \times 10^{-6} \text{ cm}^2/\text{s}$  でありフェリシアニドのみの拡散係数と比較して約 20% 低下したことが明らかとなった。この結果と血清タンパク質存在下のフェリシアニドの測定から算出した拡散係数の比較を行った。水プラズマ処理電極では酸化還元ともに約  $5.1 \times 10^{-6} \text{ cm}^2/\text{s}$ 、アンモニアガスプラズマ処理電極では約  $5.4 \sim 6.3 \times 10^{-6} \text{ cm}^2/\text{s}$  であり、エチレングリコール存在下のフェリシアニドの測定とかなり近い値になることが明らかとなった。血清タンパク質存在下のフェリシアニドの拡散係数はフェリシアニドのみの測定の拡散係数から約 25~35% 低下している。血清タンパク質存在下の拡散係数はエチレングリコール存在下の拡散係数よりも幅がある。これはタンパク質を構成するアミノ酸の一種であるヒスチジンが局所的に正電荷を有し、負電荷であるフェリシアニドに結合すると報告されており [11]、ヒト血清アルブミンの構成要素であるヒスチジンがフェリシアニドと結合することでフェリシアニドの濃度が徐々に変化していることが起因していると考えられる。しかしながら、図 3-14 の(a)に示したアンモニアガスプラズマ処理電極を用いて測定したフェリシアニドの還元反応では、同じ粘性に揃えたエチレングリコール存在下の測定と血清タンパク質存在下のフェリシアニドの拡散係数の減少率は同程度であることから、血清タンパク質を加えることで粘性が増加し、通常の 1 M KCl 水溶液中でのフェリシアニドの拡散係数が約 20% 低下していることが明らかとなった。

### 3-3-5 タンパク質存在下でのアセトアミノフェンの電気化学分析

3-3-3 の結果項、3-3-4 の結果項より、アンモニアガスプラズマ処理電極は血清濃度のタンパク質中でも吸着を抑制できることを示した。本項では、より生化学検査に近い測定として血清タンパク質を添加した溶液中でアセトアミノフェン (Acetaminophen, Paracetamol : APAP) の電気化学測定を行った。

アセトアミノフェンは血中で  $1 \sim 10 \mu\text{g}/\text{ml}$  で解熱・鎮痛効果がある。市販薬でも広く販売

されており、入手がしやすい。その一方で、過剰に摂取すると中毒症状になり、肝機能に障害が出る恐れがある[12]。アセトアミノフェンを簡便に検出する手段は HPLC[13]、分光測定法[14]、化学発光測定[15]、電気化学分析[16-17]などが報告されている。アセトアミノフェンの中毒症状の診断は血清アセトアミノフェン濃度を測定することから、プラズマ処理を施したカーボン薄膜電極で血清タンパク質を添加した溶液中でアセトアミノフェンの分析を行った。

アセトアミノフェンの分析は pH に依存するが[18]、通常血清は pH7 付近であるため、実験は 0.1 M の  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  と 0.1 M の  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  を攪拌しながら pH7.0 になるように混合し調製した、リン酸緩衝液中で行った。アセトアミノフェンは中性溶液中で図 3-15 のような電気化学反応が起こる。

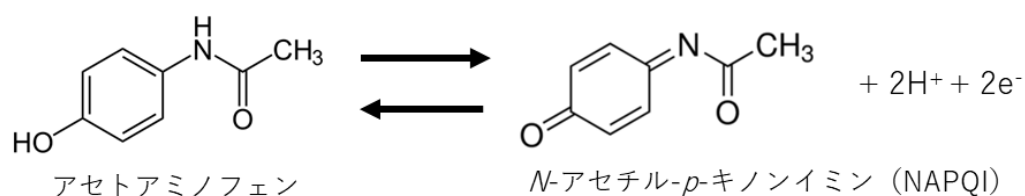


図 3-15. pH7 付近の溶媒中のアセトアミノフェンの電気化学反応

フェリシアニドの測定と同様に血清タンパク質を添加する前後で50  $\mu$ MのアセトアミノフェンのCV測定を行った。その結果を図3-16に示す。

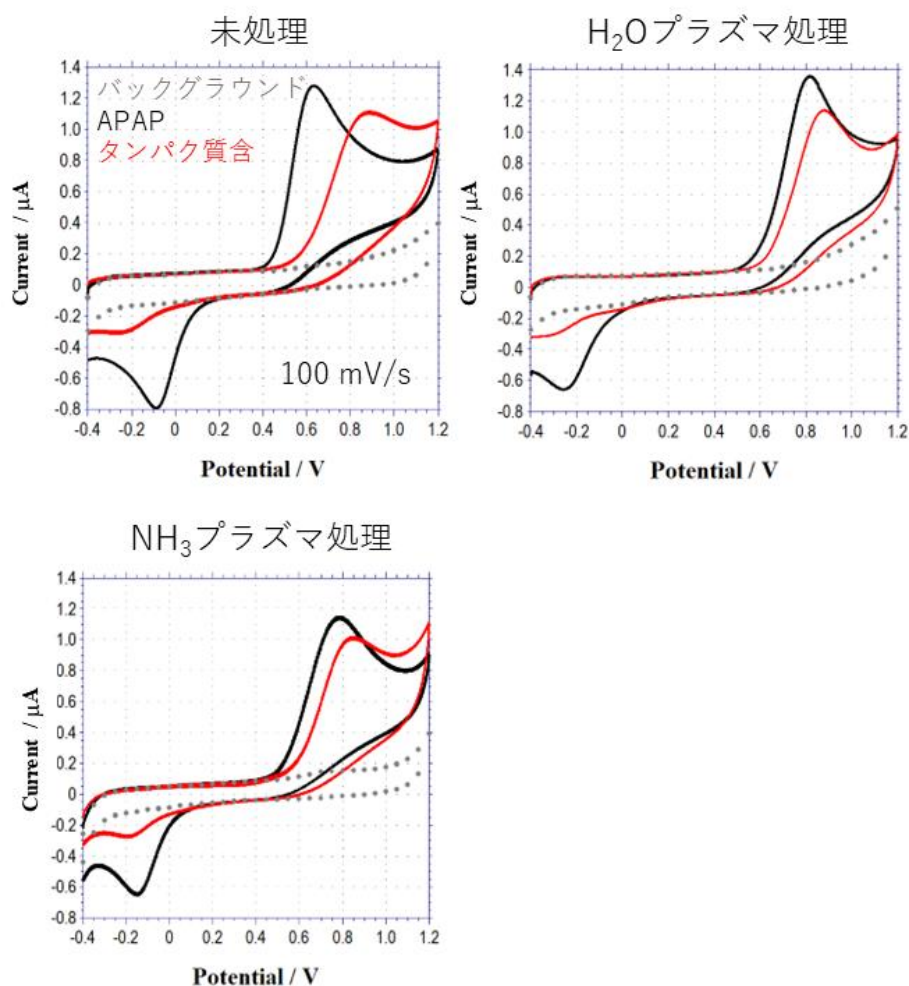


図3-16. 血清タンパク質添加前後のアセトアミノフェンCV測定結果

アセトアミノフェンのみの測定において $\Delta E$ は未処理電極で853 mV、アンモニアガスプラズマ処理電極で911 mV、水プラズマ処理電極で1074 mVになり、親水的な電極ほど $\Delta E$ が大きく、より大きな過電圧が必要になることが明らかとなった。これはアセトアミノフェンのヒドロキシ基部分と水プラズマ処理電極のヒドロキシ基で静電反発が生じていると考えられる。この溶液中に血清濃度のタンパク質を添加したところ、未処理電極では $\Delta E$ が大きく増加し、酸化ピーク電流値の減少が最も少ないのはアンモニアガスプラズマ処理電極であった。この結果から、親水的な電極表面でのタンパク質の吸着抑制と、アンモニアプラズマ処

理電極の正電荷の官能基とアセトアミノフェンのヒドロキシ基間の静電相互作用が寄与していると考えられる。興味深いことに、どのプラズマ処理電極でも血清タンパク質の添加後は還元ピークが小さい傾向がみられた。この傾向は研磨した GC 電極を使った測定においても同様の傾向がみられた。この原因はアセトアミノフェンが電極上で反応した後に生成する *N*-アセチル-*p*-キノニンが不安定な生成物であり、中性溶液中では二量体が生成しやすくなること、さらにタンパク質存在下ではこの生成物がタンパクと結合しやすいため血清タンパク質との相互作用が生じ、全ての電極で還元反応が起こりにくくなっていると考えられる [19-20]。したがって、吸着に起因するものではないと考えられる。

次に、アセトアミノフェン濃度を 1 mM に変更し、血清タンパク質存在下で 5 分毎に 10 回測定を行った。1 回目の酸化ピーク電流値を基準とし、5 分毎に測定した際の酸化電流値の減少率のプロットを行った。その結果を図 3-17 に示す。

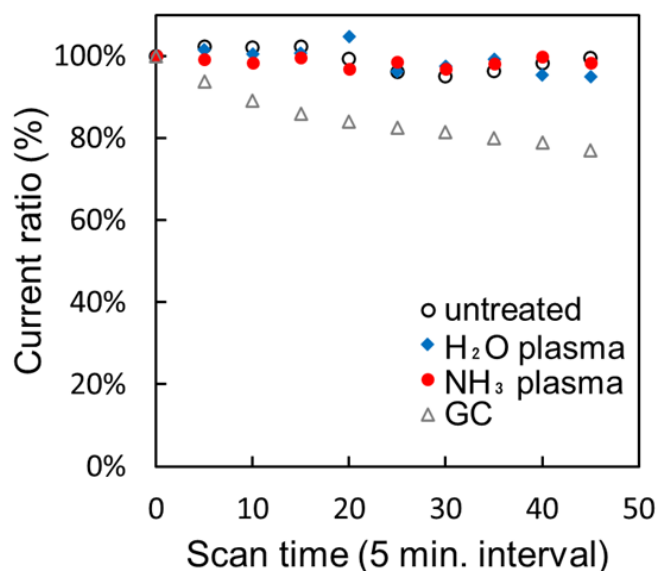


図 3-17. 血清タンパク質存在下の 1 mM アセトアミノフェン 5 分毎 10 回測定結果

電極表面の凹凸が多い GC 電極では、測定回数を重ねるごとに酸化ピーク電流値が減少していくことが明らかとなった。この傾向は血清タンパク質を含まない、1 mM のアセトアミノフェンの 10 回掃引でも同様の傾向があった。アセトアミノフェンの酸化生成物である *N*-

アセチル-*p*-キノニンが電極表面に吸着することに加え、血清タンパク質がGC電極の表面に吸着することから電流値が徐々に減少していくと考えられる。しかしながら、平坦性に優れたカーボン薄膜電極では、10回測定を行っても高い電流値を得ることに成功した。未処理の電極も10回測定を行った時の電流値の減少は少ないが、図3-16に示したように、血清タンパク質添加の前後で $\Delta E$ の増加は大きい。一方で、アンモニアガスプラズマ処理電極は血清タンパク質添加の前後で $\Delta E$ の増加が最も少なく、血清タンパク質存在下で5分毎の繰り返し測定を行った場合でも電流値の低下がみられず、安定した測定が可能であることが明らかとなった。

### 3-4 第3章 結論

カーボン薄膜のアンモニアプラズマ処理により電極表面に窒素を5%導入され、XPSの波形分離からアミノ基で修飾されたことを確認した。これにより、本実験で電極表面に正電荷の官能基（アミノ基）が導入されたことで負電荷のフェリシアニドの電子移動速度が向上したことを明らかにした。アンモニアガスプラズマ処理により、タンパク質の汚染モデルとしたBSA[19]やヒト血清アルブミン、 $\gamma$ -グロブリンの添加後も $\Delta E$ の増加、電流値の減少が少なく、タンパク質の吸着抑制が可能であることが明らかとなった。

電極表面に吸着しないエチレングリコールを添加することで、血清タンパク質存在下と同程度の粘性にした1 M KCl水溶液中のフェリシアニドの電気化学測定では、何も添加していない1 M KCl水溶液中での測定と比較して拡散係数が20%程度低下することを明らかにした。また、ヒト血清アルブミンを構成するアミノ酸の一種であり、正電荷を有するヒスチジンが負電荷のフェリシアニドと結合することで電流値の減少に影響していることを明らかにした。

さらに、この電極を使ってより生化学検査に近い、血清タンパク質存在下でアセトアミノフェンの分析に応用した結果、アンモニアガスプラズマ処理によって血清濃度のタンパク質存在下でもタンパク質の吸着による $\Delta E$ 増加を抑制することができた。5分毎の繰り返し測定においてもアセトアミノフェンの安定した分析が可能であることを示した。

### 3-5 参考文献

- [1] T. Goto, T. Yasukawa, K. Kanda, S. Matsui, and F. Mizutani, Inhibition of Electrochemical Fouling against Biomolecules on a Diamond-Like Carbon Electrode, *Anal. Sci.*, 2011, **27**, 91-94.
- [2] Q. Xue, D. Kato, T. Kamata, S. Umemura, S. Hirono, and O. Niwa, Electron Cyclotron Resonance-Sputtered Nanocarbon Film Electrode Compared with Diamond-Like Carbon and Glassy Carbon Electrodes as Regards Electrochemical Properties and Biomolecule Adsorption, *Jpn. J. Appl. Phys.*, 2012, **51**, 090124.
- [3] O. Niwa, J. Jia, Y. Sato, D. Kato, R. Kurita, K. Maruyama, K. Suzuki, and S. Hirono, Electrochemical Performance of Angstrom Level Flat Sputtered Carbon Film Consisting of  $sp^2$  and  $sp^3$  Mixed Bonds, *J. Am. Chem. Soc.*, 2006, **128**, 7144-7145.
- [4] P. Chen, and R. L. McCreery, Control of Electron Transfer Kinetics at Glassy Carbon Electrodes by Specific Surface Modification, *Anal. Chem.*, 1996, **68**, 3958-3965.
- [5] X. Yang, L. Haubold, G. DeVivo, and G. M. Swain, Electroanalytical Performance of Nitrogen-Containing Tetrahedral Amorphous Carbon Thin-Film Electrodes, *Anal. Chem.*, 2012, **84**, 6240-6248.
- [6] T. Kamata, D. Kato, S. Hirono, and O. Niwa, Structure and Electrochemical Performance of Nitrogen-Doped Carbon Film Formed by Electron Cyclotron Resonance Sputtering, *Anal. Chem.*, 2013, **85**, 9845-9851.
- [7] T. Kamata, D. Kato, S. Umemura, and O. NIWA, Structure and Electrochemical Performance of Nitrogen-Doped Carbon Film Formed by Electron Cyclotron Resonance Sputtering, *Anal. Sci.*, 2015, **31**, 651-656.
- [8] O. Niwa, S. Ohta, S. Takahashi, Z. Zhang, T. Kamata, D. Kato, and S. Shiba, Structure and Electrochemical Performance of Nitrogen-Doped Carbon Film Formed by Electron Cyclotron

Resonance Sputtering, *Anal. Sci.*, 2021, **37**, 37-47.

[9] A. Ueda, D. Kato, R. Kurita, T. Kamata, H. Inokuchi, S. Umemura, S. Hirono, and O. Niwa, Efficient Direct Electron Transfer with Enzyme on a Nanostructured Carbon Film Fabricated with a Maskless Top-Down UV/Ozone Process, *J. Am. Chem. Soc.*, 2011, **133**, 4840-4846.

[10] G. Gerhardt, and R. N. Adams, Determination of Diffusion Coefficients by Flow Injection Analysis, *Anal. Chem.*, 1982, **54**, 2618-2620.

[11] G. B. Postnikova, S. A. Moiseeva, E. A. Shekhovtsova, E. V. Goraev, and V. S. Sivozhelezov, Ferrocyanide - a novel catalyst for oxymyoglobin oxidation by molecular oxygen, *FEBS Journal*, 2007, **274**, 5360-5369.

[12] Sysmex 株式会社 Primary Care, 血液化学検査「アセトアミノフェン」 [https://primary-care.sysmex.co.jp/speed-search/index.cgi?c=speed\\_search-2&pk=595](https://primary-care.sysmex.co.jp/speed-search/index.cgi?c=speed_search-2&pk=595)

[13] H. Fujino, H. Yoshida, H. Nnohta, and M. Yamaguchi, HPLC Determination of Acetaminophen in Saliva Based on Precolumn Fluorescence Derivatization with 12-(3,5-Dichloro-2,4,6-triazinyl)-benzo[d]benzo[1,2-6,5]isoindolo[1,2-b][1,3]thiazolidine *Anal. Sci.*, 2005, **21**, 1121-1124.

[14] B. Morelli, Spectrophotometric determination of paracetamol in pure form and in tablets, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 1989, **7**(5), 577-584.

[15] S. Emdadi, M. H. Sorouraddin, and L. Denanny, Enhanced chemiluminescence determination of paracetamol, *Analyst*, 2021, **146**, 1326-1333.

[16] D. Kim, S. Lee, Y. Piao, Electrochemical determination of dopamine and acetaminophen using activated graphene-Nafion modified glassy carbon electrode, *J. Electroanal. Chem.*, 2017, **794**, 221-228.

[17] M. H. Mashhadizadeh, and F. Rasouli, Design of a New Carbon Paste Electrode Modified with TiO<sub>2</sub> Nanoparticles to Use in an Electrochemical Study of Codeine and Simultaneous Determination of Codeine and Acetaminophen in Human Plasma Serum Samples,



*Electroanalysis*, 2014, **26**, 2033-2042.

[18] Y. Li, and S-M. Chen, The Electrochemical Properties of Acetaminophen on Bare Glassy Carbon Electrode, *Int. J. Electrochem. Sci.*, 2012, **7**, 2175-2187.

[19] R. Manjunatha, D. H. Nagaraju, G. S. Suresha, J. S. Melo, S. F. D'Souza, and T. V. Venkatesha, Electrochemical detection of acetaminophen on the functionalized MWCNTs modified electrode using layer-by-layer technique, *Electrochimica Acta*, 2011, **56**, 6619-6627.

[20] 大江 知之, 反応性代謝物とその評価, 日薬理誌 (*Folia Pharmacol. Jpn.*) , 2009, **134**, 338-341.

[21] S. Ohta, S. Shiba, T. Yajima, T. Kamata, D. Kato, and O. Niwa, Gas-phase Treatment Methods for Chemical Termination of Sputtered Nanocarbon Film Electrodes to Suppress Surface Fouling by Proteins, *J. Photopolym. Sci. Technol.*, 2019, **32**, (3), 523-528.

## 第4章 窒素化ニッケル(Ni)ナノ粒子修飾電極による糖の検出

### 4-1 背景と目的

近年、高効率な触媒反応を起こす材料の開発として、貴金属ナノ粒子の開発が盛んに行われている。金属ナノ粒子はサイズを小さくすることでバルクよりも安価であることから、更なる触媒活性の向上に向けて金属ナノ粒子をめっきした電極が注目されている。さらに、金属はナノ粒子化することでバルクの電極よりも表面積が大きくなり、エッジ面が多くなることから少ない量でも高い触媒活性を得ることができる。めっきされる金属ナノ粒子はパラジウム(Pd)、白金(Pt)、ニッケル(Ni)、コバルト(Co)や、これらの合金めっき電極が研究されている[1-7]。これらの触媒反応を利用した電極の開発はORR活性や酸素発生反応(Oxygen evolution reaction : OER)に向けた開発が非常に多く成されている。

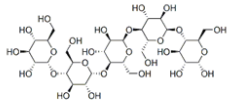
金属ナノ粒子を有する構造のカーボン電極は電気化学分析にも用いられており、触媒作用をもつ金属ナノ粒子修飾カーボン電極は、その優れた触媒活性から糖の酸化反応の検出への応用が検討されてきた。糖類の酸化反応は電極活性が低いため、通常のカーボン電極では過電圧が大きく高感度な分析は困難であった。Youらはスパッタカーボン膜の成膜時にNiナノ粒子を同時に埋め込んだNiナノ粒子埋め込みカーボン薄膜電極を作製し、糖のフロー分析に応用した[8]。さらにスパッタカーボン膜を利用したNi-Cuのナノアロイ構造を有する電極を腸疾患の糖診断マーカーとしてHPLC分析に応用した報告もされている[9]。このように、Niナノ粒子を含むカーボン電極は糖類の検出において有用な触媒活性を有することが明らかにされてきた。

本章では、窒素化カーボン電極にNiナノ粒子をめっきした電極による糖の分析について述べる。Niナノ粒子のめっきを窒素化カーボン電極上に行うことで、図4-1に示すように更なる触媒活性を向上させ、糖の高感度な分析を行うことを目的とした。

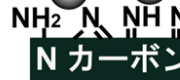
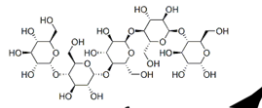
**未処理カーボン上のNi(OH)<sub>2</sub>触媒**

**窒素化カーボン上のNi(OH)<sub>2</sub>触媒**

**マルトペンタオース (G5)**



カーボン



(●Ni(OH)<sub>2</sub> ナノ粒子)

図 4-1. 窒素化カーボンを担体とした Ni ナノ粒子めっき電極のイメージ

## 4-2 実験方法

第2章、第3章と同様に3インチのシリコン基板上に  $sp^2 : sp^3 = 50 : 50$  のカーボン薄膜電極を成膜した。

この電極上に純窒素ガス(99.9%)をプラズマ源としたプラズマ処理を行った。プラズマ処理は低圧真空プラズマ装置(魁半導体製、YHS-Gモデル)を使用し、出力100W、ガス圧30Paとし、室温で15分間行った。処理した電極に0.1M酢酸ナトリウム水溶液( $CH_3COONa$ )を溶媒とした500 $\mu$ Mの塩化ニッケル溶液( $NiCl_2$ )中でめっきを行った。めっきは60秒間行い、めっき電位は-1.0Vから-1.2Vまで条件を変更し粒子径の制御を試みた。めっき後に0.1Mおよび1Mの水酸化ナトリウム( $NaOH$ )水溶液中で(水酸化ニッケル： $Ni@Ni(OH)_2$ )からCVによってオキシ水酸化ニッケル( $Ni@NiOOH$ )を形成し、オリゴ糖(マルトペンタオース：G5)のLSV測定を行った。

さらに、めっきした電極はFE-SEM, HR-TEM, HAADF-STEM-EDS観察を行い、窒素プラズマ処理の有無についても検討した。

### 4-3 結果及び考察

#### 4-3-1 Ni ナノ粒子修飾電極の FE-SEM, HR-TEM , HAADF-STEM-EDS 観察

窒素化プラズマ処理の前後の薄膜にめっきした電極を用いて電位を変えて形成したナノ粒子径の違いを FE-SEM で確認した。

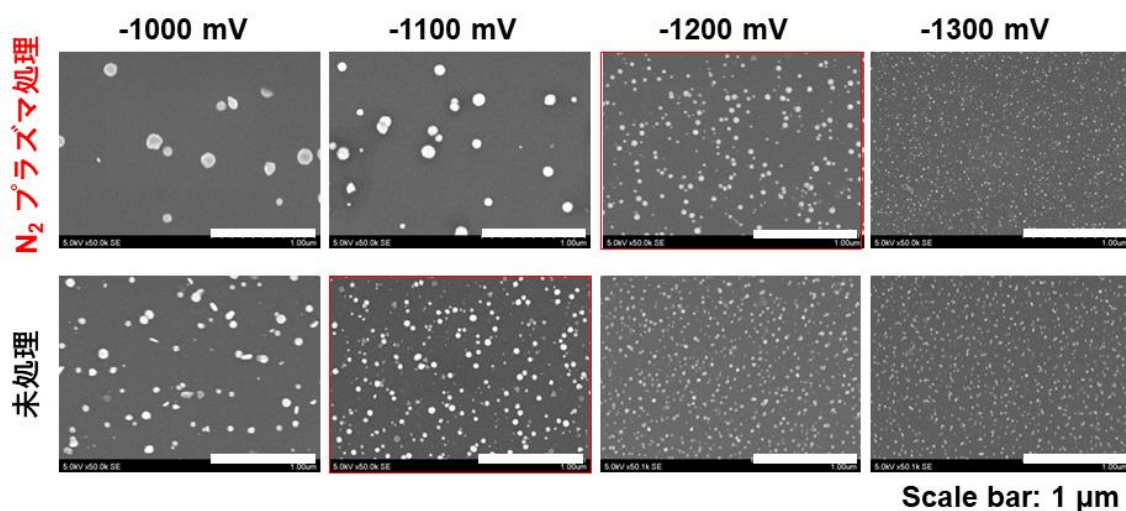


図 4-2. Ni めっき電極の FE-SEM 像：上段が窒素化プラズマ処理後  
下段が未処理のカーボン薄膜電極

図 4-2 に示すように、めっき電位が卑であるほど Ni ナノ粒子の粒子径が小さくなることが明らかとなった。また、窒素プラズマ処理によって Ni ナノ粒子の粒径は大きくなる傾向がみられた。これは窒素プラズマ処理によりカーボン薄膜電極表面の  $sp^2$  の活性点数が未処理よりもわずかに小さくなるためであると考えられる。さらに、Ni@Ni(OH)<sub>2</sub> のナノ粒子径のサイズ分布についても調べた。

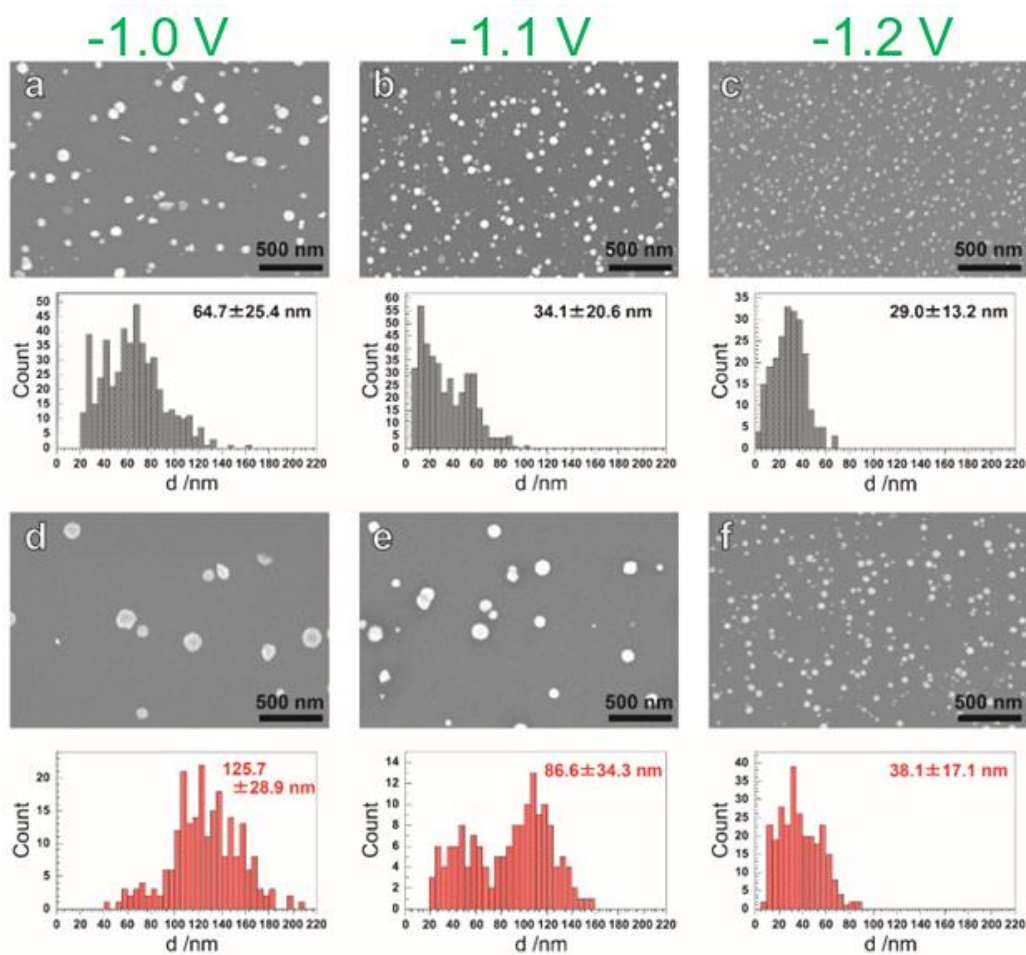


図 4-3. Ni@Ni(OH)<sub>2</sub> のナノ粒子径のサイズ分布

上段 a~c は未処理電極上、下段 d~f は窒素プラズマ処理電極上の Ni めっき

図 4-3 に示すように、めっきサイズの分布からもめっき電位を卑にしていくと微小化していくことが明らかとなった。窒素プラズマ処理の有無によりめっきサイズが異なるため、未処理薄膜電極上へのめっき電位を-1.1 V、窒素プラズマ処理電極上へのめっき電位を-1.2 V に設定し、Ni ナノ粒子のサイズがほぼ同一になる条件で Ni@ Ni(OH)<sub>2</sub> 触媒の比較を行った。この 2 つの電極の TEM 像、EDS 像による原子配列の観察結果を図 4-4 に示す。

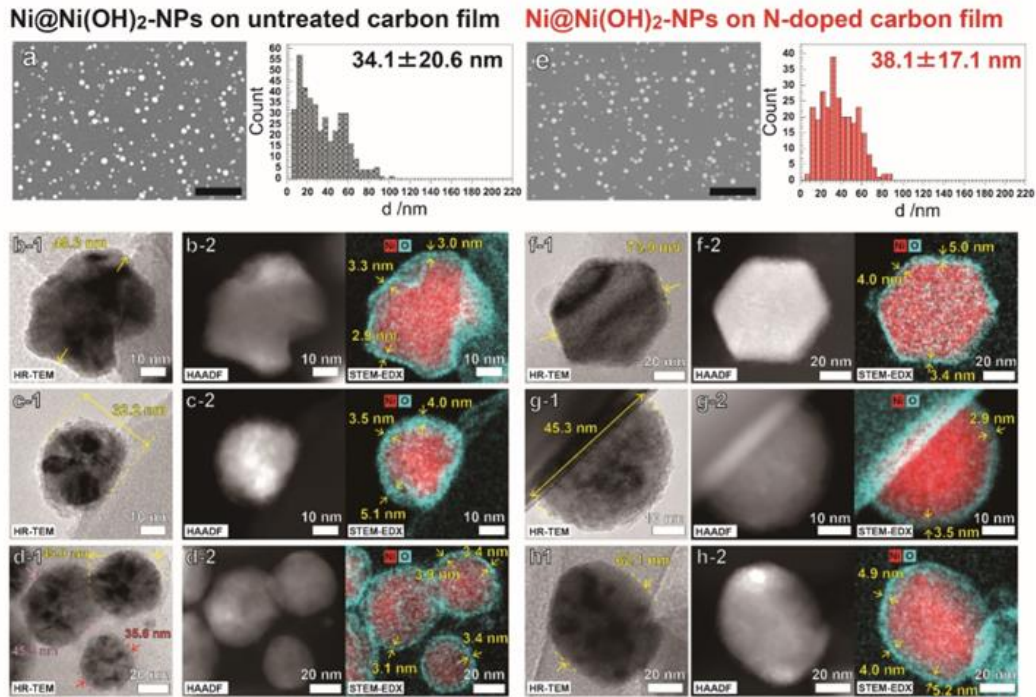


図 4-4. 未処理電極 (b-1~d2) と窒素プラズマ処理電極(f-1~h-2)の

Ni@ Ni(OH)<sub>2</sub> の TEM 像と EDS 像の比較

未処理電極の b-1 の TEM 像により、未処理電極上の Ni@ Ni(OH)<sub>2</sub> は所々黒い点があることが確認できる。これは恐らく未処理電極上の Ni@ Ni(OH)<sub>2</sub> は粒界ができていていると考えられる。一方で、窒素プラズマ処理電極上の Ni@ Ni(OH)<sub>2</sub> は f-1 の像から未処理電極上の粒子よりも均一性の良い構造ができていていると考えられる。原子イメージの様子 (カラー図) から窒素プラズマ処理電極上の Ni 粒子状に形成した Ni(OH)<sub>2</sub> は均一な厚さにできていていることがわかる。

### 4-3-2 Ni ナノ粒子表面の活性点形成反応

0.1 M NaOH 水溶液 (pH=12.7) の CV 測定により NiOOH の活性点形成反応をモニタリングした。図 4-5 に示すように、この NiOOH が形成されることで電極上において糖の酸化反応が起こる。

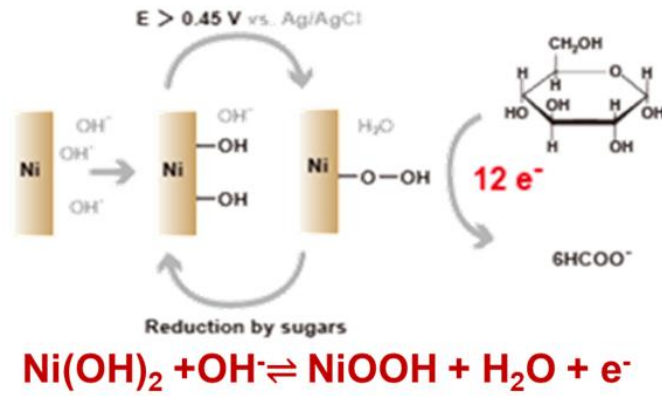


図 4-5. Ni(OH)<sub>2</sub> から NiOOH の形成と糖の酸化



CVの走査速度を変更し、NiOOHの活性点形成の速さを比較した。その結果を図4-6に示す。

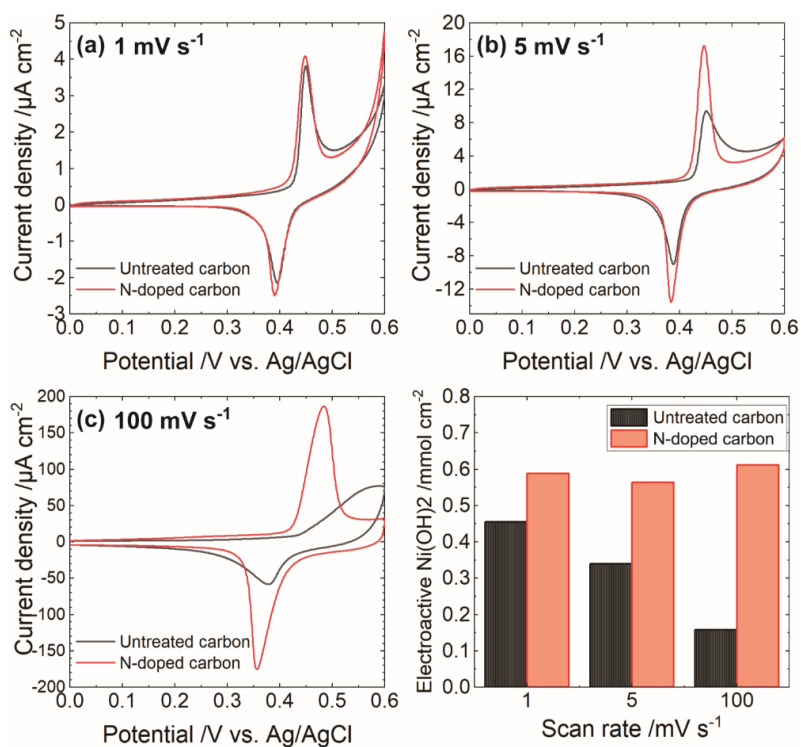


図 4-6. Ni@ Ni(OH)<sub>2</sub>から NiOOH の活性点形成サイクルの走査速度依存性

走査速度の遅い 1 mV/s では未処理と窒素プラズマ処理電極で NiOOH の形成の速度の差はあまりみられなかった。しかし、走査速度を速くした場合、未処理のカーボン膜上に形成した Ni ナノ粒子では $\Delta E$ が大幅に増加した。未処理のカーボン膜において、電荷量から計算した電極表面の Ni@ Ni(OH)<sub>2</sub> の量も走査速度が速くなると低下する傾向がみられた。窒素化カーボン電極では走査速度を速くした場合も酸化還元サイクルが明瞭なことから、窒素化カーボンは Ni@Ni(OH)<sub>2</sub> ナノ粒子の酸化還元反応速度を向上するといえる。

### 4-3-3 オリゴ糖の電気化学分析と pH 依存性

Ni@Ni(OH)<sub>2</sub> を形成した電極で 300 μM のマルトペンタオースのリニアスイープボルタノメトリ (LSV) 測定を行った。さらに、pH12.0 と pH12.7 で pH 依存性を比較した。結果を図 4-7 に示す。

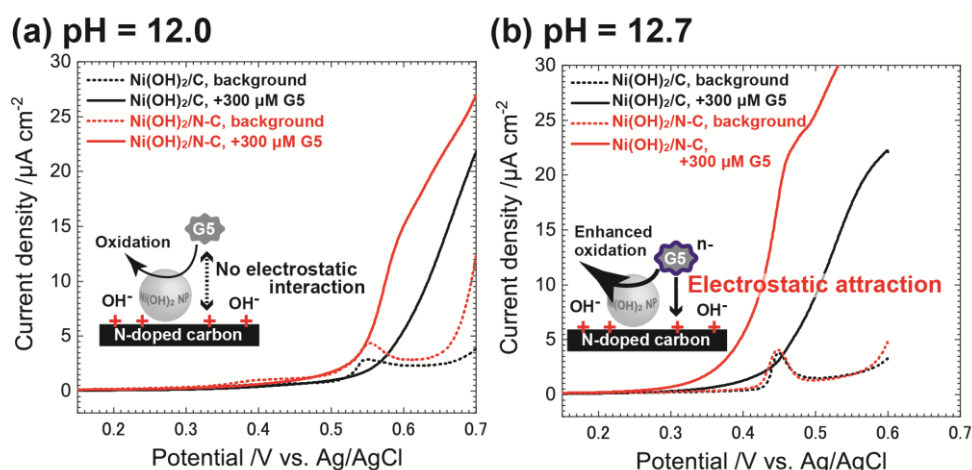


図 4-7. 300 μM マルトペンタオースの LSV 測定結果

pH12.0 の NaOH 中の測定では未処理のカーボン膜に比べ、窒素プラズマ処理をした薄膜の Ni@Ni(OH)<sub>2</sub> ナノ粒子修飾電極で高い酸化電流値が得られた。この結果は図 4-6 で示したように、窒素化したカーボン膜上の Ni ナノ粒子の NiOOH 形成反応の速さが起因していると考えられる。一方で pH12.7 の NaOH 中の LSV 測定では、窒素化カーボン膜でマルトペンタオースの酸化電位が大幅に低下し、0.3 V 付近から酸化反応が始まっており、未処理の膜よりも高い電流値が得られた。この結果から、窒素化カーボン電極上の Ni@Ni(OH)<sub>2</sub> はマルトペンタオースに対して非常に大きな電極触媒活性を示した。

この pH による違いは、マルトペンタオースの酸解離定数(pKa)が影響していると考えられる。マルトペンタオースの pKa は 12.4 であることから、pH12.4 以上で負電荷に帯電していると考えられ、高 pH 側では窒素化カーボン電極表面とマルトペンタオース間で静電相互作用が生じ、電極表面に引き付けられているのではないかと考えられる。

#### 4-4 第4章 結論

本章では UBM スパッターカーボン薄膜上に窒素プラズマ処理を行い、その上に Ni ナノ粒子をめっきすることで Ni ナノ粒子触媒の担持体として使用した。めっきした Ni ナノ粒子のサイズや分布揃えて TEM 像、EDS 像で比較した結果、窒素化カーボン膜上に形成した Ni@Ni(OH)<sub>2</sub> は未処理の膜よりも均一性が良く結晶性が良いことを確認した。さらに NiOOH の活性点形成反応では窒素化カーボン膜では走査速度を速くしても酸化還元ピークが未処理の膜よりも大きく、酸化還元サイクルが速いことを明らかにした。NaOH 中のマルチペンタオースの LSV 測定では、pH=12.7 で酸化反応の速さに差がみられ、窒素化カーボン膜では電極触媒活性が高いことを明らかにした。また、マルチペンタオースの pKa により、pH12.4 以上ではマルチペンタオースが正に帯電した窒素化カーボン電極表面に引き付けられ、高い電極触媒活性が生じたと考えられる[10]。

#### 4-5 参考文献

- [1] R. Arrigo, M. E. Schuster, Z. Xie, Y. Yi, G. Wowsnick, L. L. Sun, K. E. Hermann, M. Friedrich, P. Kast, M. Havecker, A. Knop-Gericke, and R. Schlo, Nature of the N–Pd Interaction in Nitrogen-Doped Carbon Nanotube Catalysts, *ACS Catal.*, 2015, **5**, 2740-2753.
- [2] L. F. Mabena, S. S. Ray, S. D. Mhlanga, and N. J. Coville, Nitrogen-doped carbon nanotubes as a metal catalyst support, *Appl Nanosci.*, 2011, **1**, 67-77.
- [3] M. S. Saha, R. Li, X. Suna, and S. Ye, 3-D composite electrodes for high performance PEM fuel cells composed of Pt supported on nitrogen-doped carbon nanotubes grown on carbon paper, *Electrochem. Commun.*, 2009, **11**, 438-441.
- [4] P. Cai, Y. Hong, S. Ci, and Z. Wen, In situ integration of CoFe alloy nanoparticles with nitrogen-doped carbon nanotubes as advanced bifunctional cathode catalysts for Zn–air batteries, *Nanoscale*, 2016, **8**, 20048-20055.
- [5] D. C. Higgins, D. Meza, and Z. Chen, Nitrogen-Doped Carbon Nanotubes as Platinum Catalyst Supports for Oxygen Reduction Reaction in Proton Exchange Membrane Fuel Cells, *J. Phys. Chem. C*, 2010, **114**, 21982-21988.
- [6] H. Guo, Q. Feng, J. Zhu, J. Xu, Q. Li, S. Liu, K. Xu, C. Zhang, and T. Liu, Cobalt nanoparticle-embedded nitrogen-doped carbon/carbon nanotube frameworks derived from a metal–organic framework for tri-functional ORR, OER and HER electrocatalysis, *J. Mater. Chem. A*, 2019, **7**, 3664-3672.
- [7] L-S. Zhang, X-Q. Liang, W-G. Song, and Z-Y. Wu, Identification of the nitrogen species on N-doped graphene layers and Pt/NG composite catalyst for direct methanol fuel cell, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 2010, **12**, 12055-12059.
- [8] T. You, O. Niwa, Z. Chen, K. Hayashi, M. Tomita, and S. Hirono, An Amperometric Detector Formed of Highly Dispersed Ni Nanoparticles Embedded in a Graphite-like Carbon

Film Electrode for Sugar Determination, *Anal. Chem.*, 2003, **75**, 5191-5196.

[9] S. Shiba, D. Kato, T. Kamata, and O. Niwa, Co-sputter deposited nickel–copper bimetallic nanoalloy embedded carbon films for electrocatalytic biomarker detection, *Nanoscale*, 2016, **8**, 12887-12891.

[10] S. Shiba, S. Ohta, K. Ohtani, S. Takahashi, D. Kato, and O. Niwa, Supporting effects of a N-doped carbon film electrode on an electrodeposited Ni@Ni(OH)<sub>2</sub> core–shell nanocatalyst in accelerating electrocatalytic oxidation of oligosaccharides, *RSC Adv.*, 2021, **11**, 13311-13315.

## 第5章 総括

本研究ではスパッタ法で作製したナノカーボン薄膜電極に窒素化プラズマ処理を施し、電極活性の向上と電気化学分析への応用を目的とした。生体分子の安定した電気化学分析に向けて酸素系官能基と窒素系官能基で電極表面を修飾することで、生体分子の吸着を抑制する電極の開発、検討を行った。また、窒素原子を担体としたニッケルナノ粒子めっき電極を作製し、窒素原子がニッケルナノ粒子に与える影響についても検討を行った。

第2章では UBM スパッタカーボン薄膜電極にアンモニアを含むガスの雰囲気下でプラズマ処理を施すことにより、電極表面に酸素と窒素を含む置換基で修飾した。窒素を含む親水性的な電極になったことでセロトニンの電解生成物の吸着を抑制できることが可能であることを見出した。さらに、アンモニア水プラズマ処理電極でセロトニンの代謝物である 5-ヒドロキシインドール酢酸、5-ヒドロキシトリプトホールの電気化学分析においても安定した分析を行うことが可能であることを明らかにした。

第3章ではアンモニアプラズマ処理により電極表面に導入された窒素の XPS の波形分離を行い、電極表面がアミノ基で修飾されたことを確認した。電極表面に正電荷の官能基（アミノ基）が導入されたことで負電荷のフェリシアニド ( $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ ) の電子移動速度が向上したことを明らかにした。アンモニアガスプラズマ処理により、タンパク質の汚染モデルとした BSA やヒト血清アルブミン、 $\gamma$ -グロブリンの添加後も  $\Delta E$  の増加、電流値の減少が少なく、タンパク質の吸着抑制が可能であることが明らかとなった。また、電極に吸着しないエチレングリコールを添加し、血清タンパク質存在下と同程度の粘性にした水溶液中でフェリシアニドの電気化学測定を行うことで、血清タンパク質による溶液の粘性とフェリシアニドへの拡散係数への影響を明らかにした。さらに、この電極を使って血清タンパク質存在下でアセトアミノフェンの分析に応用した結果、アンモニアガスプラズマ処理によって血清濃度のタンパク質存在下でも、吸着の影響を抑えてアセトアミノフェンの検出が可能であることを示した。

第4章では UBM スパッタカーボン薄膜上に窒素プラズマ処理を行い、その上に Ni ナノ粒子をめっきすることで Ni ナノ粒子触媒の担持体として使用した。めっきした Ni ナノ粒子のサイズや分布揃えて TEM 像、EDS 像で比較した結果、窒素化カーボン膜上に形成した Ni@Ni(OH)<sub>2</sub> は未処理の膜よりも均一性が良く結晶性が良いことを確認した。さらに NiOOH の活性点形成反応では窒素化カーボン膜では走査速度を速くしても酸化還元ピークが未処理の膜よりも大きく、触媒サイクルが速いことを明らかにした。NaOH 中のマルチペンタオースの LSV 測定では、pH=12.7 で酸化反応の速さに差がみられ、窒素化カーボン膜では電極触媒活性が高いことを明らかにした。

アンモニアを含むプラズマ処理を行った電極は、有機分子材料を使用することなく、表面親水化と同時に、窒素を含む官能基と酸素を含む官能基で正電荷と負電荷の両方を付与した新規な電極材料であることを示した。また、窒素化カーボン上の Ni ナノ粒子めっき電極の触媒活性の向上による糖類の過電圧低下の報告はこれまでになく新規性がある。分析ターゲットの安定かつ高感度な電気化学分析を可能にする技術として窒素化プラズマ処理は有用であり、他のカーボン材料にも応用できると考えられることから本研究は意義のあるものといえる。

## 発表リスト

### 本論文を構成する学術論文

1. **Saki Ohta**, Shunsuke Shiba, Tatsuhiko Yajima, Tomoyuki Kamata, Dai Kato, and Osamu Niwa, *J. Photopolym. Sci. Technol.*, 2019, **32**, (3), 523–528.
2. **Saki Ohta**, Shunsuke Shiba, Tatsuhiko Yajima and Osamu Niwa, *Electrochemistry*, 2020, **88**(5), 387–391.
3. Shunsuke Shiba, **Saki Ohta**, Kazuya Ohtani, Shota Takahashi, Dai Kato, and Osamu Niwa, *RSC Adv.*, 2021, **11**, 13311–13315.

### その他の論文

1. **太田 早紀**, 芝 駿介, 鎌田 智之, 加藤 大, 矢嶋 龍彦, 丹羽 修, 分析化学誌(総合論文), 2021 年 70 卷 9 号 p. 511-520.



## 学会発表

### 口頭発表

1. B2-06 太田早紀, 芝駿介, 矢嶋龍彦, 鎌田智之, 加藤大, 丹羽修, “タンパク質の吸着汚染抑制を目的としたカーボン薄膜電極の気相処理に関する比較研究”, 第 36 回国際フオートポリマーコンファレンス (2019)
2. 3B13 太田早紀, 小澤友範, 芝駿介, 矢嶋龍彦, 鎌田智之, 加藤大, 丹羽修, ” 高濃度タンパク質の吸着抑制に向けた表面処理スパッタカーボン薄膜電極の開発”
3. G2005 太田早紀, 小澤友範, 芝駿介, 矢嶋龍彦, 鎌田智之, 加藤大, 丹羽修, “プラズマ処理表面改質カーボン薄膜電極の血清タンパク質存在下の電気化学分析への応用”, 日本分析化学会 第 70 年会 (2021)
4. 1A14 太田早紀, 小澤友範, 芝駿介, 矢嶋龍彦, 鎌田智之, 加藤大, 丹羽修, ” プラズマ処理窒素カーボン薄膜を用いた血清タンパク存在下での電気化学分析”, 電気化学会第 89 回大会 (2022)
5. B2009 太田早紀, 小澤友範, 芝駿介, 矢嶋龍彦, 鎌田智之, 加藤大, 丹羽修, ” プラズマ処理窒素化カーボン薄膜電極による血清タンパク質存在下の電気化学分析”, 第 82 回分析化学討論会 (2022)
6. C3105 太田早紀, 芝駿介, 矢嶋龍彦, 鎌田智之, 加藤大, 丹羽修, “プラズマ表面改質カーボン薄膜電極による血清タンパク質存在下の分析と拡散挙動の評価”, 日本分析化学会 第 71 年会 (2022)

## ポスター発表

1. Y2032 **太田早紀**, 芝駿介, 矢嶋龍彦, 鎌田智之, 加藤大, 丹羽修, “スパッタカーボン薄膜電極の超親水化による表面汚染フリー生体適合電極の開発”, 日本分析化学会第 67 年会, (2018)
2. P-33 **太田早紀**, 芝駿介, 矢嶋龍彦, 鎌田智之, 加藤大, 丹羽修, “超平坦異元素終端カーボン薄膜電極の開発及び神経伝達物質の電気化学分析への応用”, 日本化学会関東支部群馬地区研究交流発表会 (2018)
3. Y1030 **太田早紀**, 芝駿介, 矢嶋龍彦, 鎌田智之, 加藤大, 丹羽修, “電極汚染性分子の電気化学検出を目的としたスパッタカーボン薄膜電極の表面電荷制御法の開発”, 第 79 回分析化学討論会, (2019)
4. Y2009 **太田早紀**, 芝駿介, 矢嶋龍彦, 鎌田智之, 加藤大, 丹羽修, “表面改質スパッタカーボン薄膜電極を用いた吸着性の生体分子の電気化学検出”, 日本分析化学会第 68 年会 (2019)
5. BP-002 **Saki Ohta**, Shunsuke Shiba, Tatsuhiko Yajima, Tomoyuki Kamata, Dai Kato and Osamu Niwa, “Anti-fouling Properties of Sputtered Nanocarbon Film Electrodes Fabricated by Gas-phase Treatment”, 13th Asian Conference on Chemical Sensors (ACCS2019) (2019)

## 謝辞

本研究を進めるにあたり、2018 年度から現在までご指導を賜りました指導教官の埼玉工業大学大学院工学研究科生命環境化学専攻の丹羽 修 教授に厚く御礼申し上げます。研究室の設備環境を整えていただいたこと、これまで多くの学会に参加させていただいたこと、丹羽先生のこれまでの多くの経験や幅広い知識から研究の楽しさを教えていただいたことなど、常にあたたかいご指導をいただきました。心より感謝申し上げます。

本博士論文の審査にあたり、副査をお引き受けいただきました情報システム専攻の佐藤 進 教授、生命環境化学専攻の熊澤 隆 教授、長谷部 靖 教授、松浦 宏昭 教授に深く感謝申し上げます。新たな視点から本博士論文へのご指摘・ご助言をいただき、材料、電気化学、分析化学の研究として、より深く学ぶことができました。

本研究の遂行にあたり、多くのご指導、ご討論を頂きました本研究室の先輩、芝 駿介 博士に深く感謝申し上げます。論文指導や実験に関して困ったことや悩んだことの相談にのってください、研究への姿勢や学部生への指導の仕方など、大変勉強になりました。

埼玉工業大学 矢嶋 龍彦 特任教授にはプラズマ処理法や XPS の分析・解析技術に関して非常に多くのご指導をいただきました。特に本研究の遂行にあたり最も重要なプラズマ技術に関して多大なるご指導をいただき、自身の技術力の向上を支援していただきました。心より感謝申し上げます。

産業技術総合研究所 健康医工学研究部門 加藤 大 グループリーダー、鎌田 智之 博士にはカーボン薄膜電極の作製について多大なるご指導いただき、スパッタリング技術を習得することができました。深く感謝申し上げます。

私にとって埼玉工業大学で過ごしてきた学部 4 年間、大学院の 5 年間は非常に充実していました。多くの思い出、経験、成長する機会を頂きました丹羽研究室の皆様、生命環境化学専攻の先生方、友人に感謝いたします。

最後に、常にあたたかく見守り、支えてくれた家族に深く感謝申し上げます。