無電解プロセスによる グルコースのアンペロメトリックセンサーの作製

松原 浩*, 近藤哲也**, 程内和範*, 山田明文*

Amperometric Glucose Sensor Fabricated Using Electroless Processes

Hiroshi MATSUBARA*, Tetsuya KONDO**,
Kazunori HODOUCHI* and Akifumi YAMADA*

Nickel, copper and copper oxide films were fabricated by electroless plating and chemical oxidation. The analytical performance of glucose by constant potential amperometry was studied in the flow system with films. An electrocatalytic glucose oxidation peak appeared in cyclic voltammograms of all films, similar to films prepared by other methods. In the flow system, the largest current was observed for the copper oxide film: excellent stability and the widest calibration curve linearity were also seen for the film. Scanning electron microscopy revealed a fine network structure for the copper oxide film. The large surface area due to such structure probably resulted in the large current.

Key Words : Glucose Analysis, Electroless Plating, Electrocatalytic Oxidation, Copper Oxide, Nickel

1. 緒 言

グルコースをはじめとする糖類の分析は、バイオテクノロジー関連分野や、成人病の予防・診断などの分野で、多検体の、より高感度で迅速な処理が要求されている。これには流れ分析が有効であるが、これらの物質は適当な発色団をもたないため誘導体化を行わない直接の分光分析は通常困難¹⁾であり、屈折率法の他、電極反応を利用した電気化学的分析法が多く研究されている。構造が単純な、固体電極を用いた直接酸化による電気化学検出法においては、コンタミネーションによる電極の活性低下が障害となるため、金や白金などの化学的に安定な材料をパルス法などにより再活性化しながら用いた報告がある^{2)~4)}。

パルス法に対して定電位法はより簡単な系であるが、アルカリ溶液中で糖類の直接酸化が可能⁵⁾であることから、ニッケルや銅をはじめ種々の金属・金属酸化物・合金などを電極に用いた場合の特性が検討された^{6)~15)}。なかでも酸化銅が触媒的に糖類を酸化し、かつ安定に活性が持続する^{11), 14), 15)}。

電気化学的分析のための電極材料には、これまで粉体や化合物を分散・担持^{8), 11), 14)}させたものやバルク金

属^{7), 10), 12)~17)}、電解析出物^{3), 6), 14)}などが用いられてきたが、ニッケルや銅は無電解めっき法によって容易に薄膜作製が可能であり、作製した銅膜を化学的に酸化することにより酸化銅膜も作製可能である。このような無電解プロセスにおいては導体・不導体を問わず種々の材料上に薄膜作製が可能であることから、比表面積の大きな材料をセンサーとして用いるなど流れ分析でのフローセルのより高度な設計が可能となると思われる。本研究では無電解プロセスによる機能性薄膜の電気化学分析への応用例として本プロセスにより作製したニッケル、銅、酸化銅膜を用いて定電位アンペロメトリーによるグルコースの検出を行い、これらの膜のグルコースセンサーとしての基礎特性を評価した。

2. 実験方法

センサー電極の作製法を図1に示す。各工程間には純水による洗浄を行った。ガラス板 (Corning, 7059, 20×30×1mm) を脱脂、アルカリ処理¹⁸⁾した後、2液型の触媒により40℃、図示の濃度で各1分間浸漬し触媒処理した。十分な触媒析出量¹⁹⁾を得るため工程を4回繰り返した。次いで無電解ニッケルめっき¹⁸⁾を行い、ニッケル電極を得た。その後1回の触媒処理を行い無電解銅めっき¹⁸⁾を行ったものを銅電極とし、さらに図に示した亜塩素酸系酸化液に40℃で3分間浸漬して酸化銅電極を作製した。以上のプロセスは主として無電解めっきと化学的酸化処理からなる完全な無電解プロセスであり、溶液に浸漬するだけで行える。比較のため銅板 (99.9%, 0.2mm厚) および無電解銅めっき膜を、0.1mol dm⁻³-NaOH中電位+0.87V vs SCEで30分

*長岡技術科学大学 化学系 (〒940-2188 新潟県長岡市上富岡町1603-1)

Dept. of Chem., Nagaoka Univ. Tech. (1603-1, Kami-tomioka-machi, Nagaoka-shi, 940-2188)

**長岡技術科学大学 化学系 [現在: (株)大和化成研究所 (〒674-0093 兵庫県明石市二見町南二見21-8)]

Nagaoka Univ. Tech. [Present: Daiwa Fine Chemicals Co., Ltd. (21-8, Minami-Futami, Futami-cho, Akashi-shi, Hyogo 674-0093)]

Fig. 1 Fabrication process of the sensor electrodes.

Fig. 2 Manifold of the flow system.

間の電解酸化を行ったものを一部用いた。銅板を用いる際には表面の酸化層を除去するために17% HCl 溶液に10秒浸漬した後30% HNO₃ 溶液に30秒間浸漬してから用いた。

電極の表面形状は金をイオンコートした後、走査型電子顕微鏡（トプコン、ABT-32）で観察した。

作用極に作製した電極（0.1cm²），参照極に飽和カロメル電極，対極に白金線をそれぞれ用いてポテンショスタット（北斗電工㈱，HA-301）およびファンクションジェネレータ（北斗電工㈱，HB-401）によりサイクリックボルタモグラムを測定した。また，0.1mol dm⁻³-NaOH をキャリアとして図2のようなフロー系（日本分光，FIU-300）を構成し，フローセル¹⁸⁾内に作製した電極を組み込んで定電位アンペロメトリーでセンサーの評価を行った。いずれも溶液の除酸素は行っていない。

Fig. 3 Cyclic voltammogram of electrolessly fabricated electrodes in 0.1mol dm⁻³-NaOH.

Solid line : 5mmol dm⁻³-glucose
Dashed line : Background

3. 結果と考察

3. 1 電極の作製と基礎特性

前節で述べた図1に示す無電解プロセスにより粘着テープ引きはがし試験（JIS H 8504（1990））に耐える十分な密着性のニッケル，銅，酸化銅膜がガラス上に作製できた。ガラス上に直接銅めっきを行うと十分な密着性が得にくかったため，銅膜を得るためにはまずニッケルめっきを行ってから銅めっきを施した¹⁹⁾。本研究では表面が被覆されていれば良いため厚いめっき膜は不要であり，膜の重量より求めた銅電極のめっき総厚は0.22 μm 程度とした。また，通常多くのめっき膜に要求される表面の平滑性もここでは重要ではないと考え，図1中に示したような濃厚な塩化スズ溶液¹⁹⁾を用いることにより十分な密着性が得られた。

図3に作製したニッケル，銅，酸化銅膜のサイクリックボルタモグラムを示す。実線がグルコースを含む溶液中でのボルタモグラムで破線はバックグラウンドである。ニッケル膜については+0.4V 付近にグルコースの酸化ピークが見られた。銅，酸化銅膜についてはいずれも+0.6V 付近により大きな酸化ピークが見られ，酸化銅については最も明瞭なピークが得られた。それ以外のピークは電極の銅の酸化還元波である⁸⁾。以上の挙動は過去の報告^{8), 20)}と類似のものであり，無電解プロセスにより作製したいずれの膜についてもこの酸化ピークを利用

してグルコースの検出が可能であると考えられる。

3. 2 定電位アンペロメトリーでの評価

以上の膜について図2に示した流れ系を構成し、定電位下でアンペロメトリックセンサーとしての特性を評価した。5 mmol dm⁻³ のグルコース溶液を50mm³ 打ち込んだときの印加電位と得られた酸化ピーク電流値の関係を酸化銅膜の場合を例に図4に示す。+0.05Vから次第に正方向に電位を印加していくと電流値が増加し、+0.62Vで最大となった。+0.65V付近より正側では電極表面より酸素ガスの発生が見られ電流値の再現性が低下したので、この系でのグルコース酸化の設定電位を+0.62V vs SCEとした。この値は図3cに示したボルタモグラムに見られるピーク位置とほぼ同様であり、フローセル内で極端なオーミックドロップは発生していない

Fig. 4 Relationships between applied potential and oxidation current.

Sample : 5mmol dm⁻³-glucose
Injection volume : 50mm³
Carrier : 0.1mol dm⁻³-NaOH
Flow rate : 1.7cm³ min⁻¹

いものと考えられる。同様な検討により、銅膜については+0.62V、ニッケル膜については+0.54V vs SCEを設定電位とした。

次に、作製した種々の電極の比較を行った。結果は5~10%程度のばらつきを含んでいたがおおよその傾向は図5のようになった。無電解銅めっき膜 (b, d, f)、無電解ニッケルめっき膜 (g)、および比較のために銅板 (a, c, e) を、それぞれ図1に示した条件で無電解酸化したもの (e, f)、比較のため電解酸化を行ったもの (c, d)、そして酸化処理を行っていないもの (a, b, g) について、グルコースの酸化ピーク電流値を比較した。銅膜については、a と b, c と d, e と f をそれぞれ比較すると無電解めっきにより作製した銅膜の電流値が銅板よりも高いことがわかる。また、a, c, e や, b, d, f を比較すると無電解酸化を行った場合が、電解酸化を行ったものや酸化処理を行っていないものと比較して最も高い電流値となっている。ニッケル膜 (g) についてはかなり電流値は低く、かつ再現性も低かった。

3. 3 電極の表面形態

図5のそれぞれの電極について表面形態の観察を行った結果を図6に示す。a~gまでは図5のa~gと対応し、hはHCl, HNO₃ 処理を行わない銅板である。銅板 (a) については、HCl, HNO₃ 処理に伴い露出した結晶面を反映していると思われる形態をしているが、無電解銅めっき電極 (b) は粒子状の析出物となっている。これは触媒化処理の塩化スズ濃度を高くしたことによって粗大な触媒核が付与¹⁹⁾ され、そこからの析出物も粗大化したものと推察されるが、このように粗な表面形状をもつことによって比表面積が大きくなり、高い電流値が得られたものと考えられる。a, b を電解酸化したものがそれぞれ c, d であるが、本報での条件の電解酸化は表面形態に本質的な影響を与えない。それにもかかわらず図5で電流値が増加しているのは、グルコースの電

Fig. 5 Oxidation current of 5 mmol dm⁻³-glucose for various electrodes.

Fig. 6 Surface morphology of various electrodes.

a) ~ g) : the same as shown in Fig. 5

h) : Cu plate without HCl-HNO₃ treatment

解酸化に活性をもつ CuO¹⁰ が酸化処理によって電極表面に生成したためと考えられる。

a, b を無電解酸化したものをそれぞれ e, f に示す。酸化前の形態を残しつつ非常に微細で均一な網状の構造

が見られ、比表面積が大きく増加していると思われる形態となっている。このためこれらの電極は高い電流値を示したものと考えられ、最も複雑な形状の、無電解銅めっきを無電解酸化した電極 (f) が最も高い電流値となっ

Fig. 7 Calibration curves for glucose.
 Injection volume: 50mm³
 Carrier: 0.1mol dm⁻³-NaOH
 Flow rate: 1.7cm³ min⁻¹
 Applied potential:
 Cu, Cu oxide (+0.62V vs SCE)
 Ni (+0.54V vs SCE)

ている。図3 b, cにみられたグルコース酸化ピークの大きさの差も同様の原因によると思われる。

以上のように、本研究で見られた銅電極相互の電流値の違いは主として電極の比表面積の違いが原因となっていると考えられる。本報で比較のため用いた電解酸化の電極は、定電位下で5～60分の酸化処理で作製したものの中では、前後数百mVの作製電位範囲内で最も高い電流値を与える条件で評価したが、電位や時間などを更に広範囲で検討する余地があると思われる。また、実際の検出下限濃度はピーク電流値とノイズの比(S/N比)で決まるため、酸化ピーク以外のバックグラウンド電流値の変動などについても更に検討する必要がある。

3. 4 センサーとしての特性

無電解プロセスにより作製した電極を用いて得られたグルコースの検量線を図7に示す。図3, 5に見られた傾向と同様、ニッケル、銅、酸化銅の順に電流値が高くなっている。ニッケル電極については、ピークの再現性が低く、電流値にかなりのばらつきが見られたためエラーバーを図示した。分析の精度を高めるためには電位の前操引やパルス法を用いるといった何らかの工夫が必要であろう。銅電極はこれに対し再現性が向上しある程度の精度のセンサーとして用いることが可能であると思われる。さらに酸化銅電極では最も高い電流値が得られ、検量線の直線範囲も $5 \times 10^{-6} \sim 1 \times 10^{-2} \text{ mol dm}^{-3}$ 程度と最も広く、 5 mmol dm^{-3} のグルコースに対し、電流値の相対標準偏差2%程度、数時間の連続使用後3ヶ月空气中に放置した後も電流値の減少はおおよそ15%以下の良好な再現性・安定性を示した。銅系^{8), 10), 12)}、酸

化銅系^{11), 14), 15)}の電極が良好な特性を示すことは既報と同様の傾向であるが、無電解プロセスにより作製した電極は図6fに示したように高い比表面積をもつと思われる微細で均一な表面形態を有し、かつ酸化膜がある程度均一で良好な膜質で成長したため高い再現性・安定性を示したものと推察され、本プロセスで作製した電極はグルコースのアンペロメトリックセンサーとして優れた特性を示すことが明らかとなった。

4. まとめ

無電解プロセスにより作製した3種の膜について、グルコースを用いて糖類のアンペロメトリックセンサーとしての可能性の評価を行ったところ以下のことがわかった。

- (1) ニッケル膜からも酸化電流値が得られるが、電流値は低く再現性も低かった。
- (2) 銅膜ではより高い電流値・再現性が得られた。無電解プロセスにより粗な表面形態の膜が作製可能である。
- (3) 高い比表面積をもつと思われる微細で均一な表面形態を有する酸化銅膜が作製可能であり、この膜では最も高い電流値が得られた。また、高い再現性・安定性を示した。

本プロセスにより優れた特性をもつグルコースセンサーが作製できた。銅系の電極上で種々の糖類は類似した電気化学的挙動を示す^{11), 14)}ことから、無電解プロセスにより作製した酸化銅膜においても、種々の糖類の検出に対する可能性が期待される。本プロセスの特徴を生かして粉体等の種々の材料がセンサーとして作製可能であると考えられる。本報では、センサーの基礎特性のみを報告したが、アルカリ中で使用可能な分離カラムを用いることによって分離分析も可能となるであろう。

本研究を進めるにあたって上村工業^株、浅富士夫氏には有益なアドバイスを戴いた。記して感謝いたします。

(Received January 14, 1998; Accepted May 18, 1998)

文 献

- 1) 三上博久, 柴木祥裕; 島津評論, **44**, 47 (1987)
- 2) D. C. Johnson, W. R. LaCourse; *Anal. Chem.*, **62**, 589A (1990)
- 3) C. P. Wilde, M. Zhang; *J. Chem. Soc. Faraday Trans.*, **89**, 385 (1993)
- 4) W. R. LaCourse, D. C. Johnson; *Anal. Chem.*, **65**, 50 (1993)
- 5) M. Fleischmann, K. Korinek, D. Pletcher; *J. Electroanal. Chem.*, **31**, 39 (1971)
- 6) K. G. Schick, V. G. Magearu, C. O. Huber; *Clin. Chem.*, **24**, 448 (1978)
- 7) R. E. Reim, R. M. V. Effen; *Anal. Chem.*, **58**, 1256 (1986)
- 8) P. Luo, S. V. Prabhu, R. P. Baldwin; *Anal. Chem.*, **62**, 752 (1990)

- 9) J. Wang, Z. Taha ; *Anal. Chem.*, **62**, 1413 (1990)
- 10) P. Luo, F. Zhang, R. P. Baldwin ; *Anal. Chim. Acta*, **244**, 169 (1991)
- 11) Y. Xie, C. O. Huber ; *Anal. Chem.*, **63**, 1714 (1991)
- 12) T. Ueda, R. Mitchell, F. Kitamura ; *J. Chromatogr.*, **592**, 229 (1992)
- 13) P. F. Luo, T. Kuwana ; *Anal. Chem.*, **66**, 2775 (1994)
- 14) K. Kano, M. Torimura, Y. Esaka, M. Goto, T. Ueda ; *J. Electroanal. Chem.*, **372**, 137 (1994)
- 15) K. Kano, K. Takagi, K. Inoue, T. Ikeda, T. Ueda ; *J. Chromatogr.*, **721**, 53 (1996)
- 16) I. Becerik, F. Kadirgan ; *Electrochim. Acta*, **37**, 2651 (1992)
- 17) P. Parpot, K. B. Kokoh, B. Beden, C. Lamy ; *Electrochim. Acta*, **38**, 1679 (1993)
- 18) 松原 浩, 近藤哲也, 程内和範, 山田明文 ; 電気化学および工業物理化学, 印刷中
- 19) 松原 浩, 山田明文 ; 電気化学協会技術・教育研究論文誌, **3**, 37 (1994)
- 20) A. Stitz, W. Buchberger ; *Fresenius J. Anal. Chem.*, **339**, 55 (1991)