

氏 名	阿 部 孝 之
授 与 学 位	工 学 博 士
学位授与年月日	平成 2 年 3 月 28 日
学位授与の根拠法規	学位規則第 5 条第 1 項
研究科, 専攻の名称	東北大学大学院工学研究科 (博士課程) 応用化学専攻
学 位 論 文 題 目	電気化学計測用超微小電極の開発と応用
指 導 教 官	東北大学教授 内田 勇
論 文 審 査 委 員	東北大学教授 内田 勇 東北大学教授 四ツ柳隆夫 東北大学教授 西山 諒行

論 文 内 容 要 旨

電気化学計測は得られる情報量の豊富さと簡便さから、最近特にその重要性が多く分野で認識されるようになってきた。それに伴い、要求される測定対象も多種多様にわたって拡大しつつある。一方、現在までの電気化学計測は、通常サイズ（電極径： $\text{mm} \sim \text{cm}$ ）の電極を用いていたため、比較的単純な系にしか適用できなかった。それ故、測定対象の選択には自ずと制限があり、必ずしも十分要求に即した活用が行われているとは言い難い。

このような状況の中で、微小領域での電気化学計測を目的として開発されたマイクロディスク電極（微小電極、電極径： μm ）は、微小な電極面積を有する故に、通常サイズの電極とは大きく異なる数々の興味ある電気化学特性を備えている。この特性により従来まで測定不可能と思われていた分野において、マイクロ電極を用いた電気化学計測が模索され、いろいろな観点から数多くの研究が試みられてきた。しかしながら、研究が始まってから既に20年近くになろうとしている現在においても、目立った進展はそれ程多くない。特に電気生理学の分野において、マイクロ電極は局所領域の素機能を探索する有力な計測手段となり得るが、電極シール部も含めた全電極径の微小化を積極的に押し進め、その応用を単一細胞にまで展開した研究は未だに行われていない。

以上の様な背景のもとに、本研究は一般の研究に用いられているマイクロ電極より更に小さいサブミクロン径の超微小電極（ウルトラマイクロ電極）の開発を行い、その応用として、従来までの研究では全く行われていない新規領域での電気化学計測を目的としたものであり、全編7章よりなる。

各章の要旨は次の通りである。

第1章 緒言

本章では、マイクロ電極の開発された背景について現代電気化学の発展してきた歴史から述べた。さらにマイクロ電極の持つ興味ある特徴を記述すると共に、その特徴に関し幾つかの電気化学的観点から通常サイズの電極との比較を行い、違いを明らかにした。

第2章 既往の研究

本章では、現在までに行われたマイクロ電極を用いた代表的な研究を、11の系統別にまとめて紹介した。これによりマイクロ電極を用いた研究の展開について述べると共に、本研究の目的を明確にした。

第3章 各種微小電極の作製

本章では、以後の研究(4~6章)に適した各種マイクロ電極を独自の方法で作製し、その電気化学特性を詳細に述べた。

マイクロ電極を用いた研究において、最大の難点は電極の作製にある。つまり研究の内容によっては、それに適したマイクロ電極が必要不可欠であり電極の作製は、この分野にとって本質的、かつ重要な研究テーマである。しかしながら、この点に焦点を絞った研究は、測定対象の発展性から考えれば非常に少なく、この事がマイクロ電極の応用を妨げてきた大きな要因となっている。

本章では5種類のマイクロ電極を作製している。その中で、特にウルトラマイクロ電極(実電極径： μm 以下)の開発では、図1に示した様な $1\mu\text{m}$ 以下の金属細線を電解研磨法により容易に作製できる事を示し、半径約 100\AA の電極作製に成功し、その電気化学的挙動を測定した。またin-vivo測定用マイクロ電極の開発では、シール部を含めた全電極径を $1\mu\text{m}$ 以下にまで微小化した電極を無電解メッキ法により作製できる事を示し、その電気化学的挙動についても検討した。これらの電極は時間的、空間的なナノ領域における電気化学計測に強力な手段を提供し得る事から、今後のマイクロ電極を用いた研究に対して大きな波及効果を持つものと考えられる。

第4章 電極反応速度論的研究

電極反応速度論的研究は電極界面での電子移動反応機構の解明などを目的として、以前から数多くの研究が行われてきた。これらの研究では、全て通常サイズの電極を使用した各種の過渡現象法による、速い時間領域の測定がなされてきた。しかしながら非定常法である過渡現象法には、得られる測定結果に誤差を含み易い欠点がある上、測定方法も煩雑であった。

本章では、電極表面への物資移動がマイクロ電極では著しく速い事に注目し、マイクロ電極を用いた定常状態での分極曲線測定から電極反応速度論的パラメータ(k^0 , α)を求める解析法について検討した。

直径 $0.88, 7.5\mu\text{m}$ のPtウルトラマイクロ電極を使用して $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$, $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}/\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$

系において k^0 , α の測定を行った。得られた値は文献値と良く一致し、本法の妥当性が確認された。また Au マイクロ電極の場合にも、同様な結果を得た。さらに $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$ 系での k^0 の温度依存性から、電極移動反応における活性化エネルギー (E_a) についても考察し、測定法の妥当性を更に確認した。

これらの結果よりマイクロ電極を用いた定常状態での測定から、電極反応速度論的パラメータの高精度な算出が可能である事、及びマイクロボルタムグラムへの速度論的因子の効果を明らかにした。

第 5 章 高分子ゲル中における電気化学測定

一般に濃度と拡散定数の両者が未知な系において、通常サイズの電極を用いた電気化学計測から、それぞれの値を独立に決定する事は困難であった。この理由は通常サイズの電極における物資移動のモードが線形の半無限拡散に支配される事に起因する。

これに対してマイクロ電極は、測定時間内で半無限線形拡散から球面拡散へと二つの拡散形態を取り得る特徴を有しており、異なる時間領域での電流応答から濃度と拡散定数を個別に求める事が示される。

本章では、この解析手法を従来の電気化学測定では全く新しい系、すなわち温度変化により体積相転移現象を示す N-イソプロピルアクリルアミドゲル高分子系に応用した。Pt マイクロ電極 (電極系: $30\ \mu\text{m}$) 表面に当該物質を修飾し、ゲル中に取り込ませた物質 ($\text{Mo}(\text{CN})_6^{4-}$) の濃度と拡散定数をゲルの相転移前後において電気化学測定から決定した。相転移前後においてゲル中の物質の拡散定数に劇的な変化が生じる事が明確に示され、溶液と固体の中間的性質を有するこの様なゲル系での電気化学測定の新たな展開を切り拓いた。

第 6 章 微小領域の電気化学測定

本章はマイクロ電極の大きな特徴である“微小な電極径”に着目し、単一細胞の様な一つの独立した微小領域における電気化学測定を目的とした 3 つの研究から成っている。

(1) マイクロカプセル中のボルタムメトリー

本節では、実際に生体単一細胞を測定対象とした研究を行う前段階として、人工的に作製したマイクロカプセルを単一細胞と見立て、その内部に存在させた電極活性物質 ($\text{Mo}(\text{CN})_6^{4-}$, FA^+ , O_2) をマイクロ電極を用いて in-situ 測定し、方法の妥当性を検討した。

得られた電気化学的挙動は水溶液系で測定したものと全く同一であった。さらに測定結果から算出した電極活性物質のカプセル膜透過係数は、他の測定 (外部溶液での吸収スペクトル測定, 電気化学測定) より算出した値と良く一致していた。この結果はマイクロカプセルの様な微小領域内においてもマイクロ電極を用いた電気化学測定が可能である事を明らかにすると共に、巨大単一細胞 ($100\ \mu\text{m}$ 以上) 中での測定ならば十分可能である事を示唆している。

(2) 単一細胞中の in-vivo ボルタムメトリー

本節では、in-vivo 測定用マイクロ電極を使用し、一般的な大きさ ($1\sim 10\ \mu\text{m}$) を持つ生きた単

一細胞中での in-vivo 測定への応用を試みた。

測定対象として用いた単一細胞はハネモのプロトプラスト（直径；10 μ m 程度）であり、測定物質は細胞内に溶存する酸素である。実際の in-vivo 測定時において電極挿入による細胞の変形、破壊が全く見られない事から細胞に損傷を与えずに in-vivo 測定が可能である事が示された。さらにプロトプラスト内の in-vivo 測定から得られた結果（図2 参照）が、外部溶液中での溶存酸素の半波電位と全く同一であった事から、プロトプラスト内における溶存酸素の in-situ モニターが十分可能である事がわかった。ここで用いた細胞が植物細胞であった事から、光合成による細胞内酸素濃度変化に注目し、外的要因（光照射, CO₂ 濃度）を変化させた時の電気化学的応答についても検討した。その結果より外的要因の変化に伴って細胞内酸素濃度の顕著な増加が検出できた。この変化は予想した光合成反応に起因した酸素濃度変化である事がアクションスペクトルの結果から明らかになった。本研究はマイクロ電極を用い、単一細胞中におけるアンペロメトリックな測定を行った最初の例である。

(3) マイクロポテンシオメトリックな測定

上記の2節では微小領域内でのアンペロメトリックな研究を行ったが、本節ではイオン選択性 Ag/AgCl マイクロ電極を用いたポテンシオメトリックを測定により、イクラ内の Cl⁻ 濃度の測定を行い、方法論を確立した。さらに前節で用いた in-vivo 測定用マイクロ電極を Ag/AgCl ウルトラマイクロ電極として、単一細胞内における Cl⁻ イオンセンシングの可能性について考察した。

第7章 結 言

本章では本研究で得られた主要な結果を総括し、その内容を要約したものである。

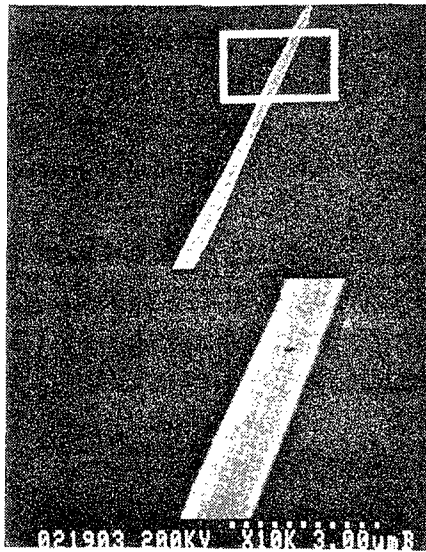


図1 電解研磨後のPt細線

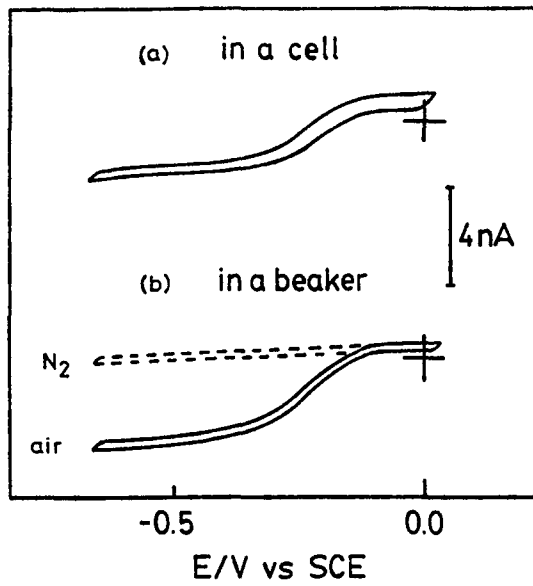


図2 in-vivo 測定用マイクロ電極を用いた酸素還元のカイクリックボルタムグラム
a) プロトプラスト, b) 海水中 (外部溶液)

審査結果の要旨

極めて小さい電極面積を持つマイクロディスク電極（電極径： $\sim\mu\text{m}$ ）は、従来から電気化学測定に用いられてきた通常サイズ（電極径： $\text{mm}\sim\text{cm}$ ）の電極にはない数々の興味ある特徴を有しており、局所領域の素機能を探索する有力な手段となり得るが、電極シール部も含めた全電極径の微小化を押し進め、その応用を生体細胞にまで展開した研究はない。本論文はマイクロ電極よりも更に小さいサブミクロン径の超微小電極の開発とその応用を目的としたもので、全編7章よりなる。

第1章は緒言である。

第2章では、マイクロ電極に関する既往の研究について述べ、本研究の目的について明確にしている。

第3章では、本研究で用いている各種のマイクロ電極を独自の方法で作製している。特に電解研磨法により半径 100\AA 程度の超微小電極を作製してボルタムグラムの測定に成功している。また無電解メッキ法によりシール部も含めた全電極径 $1\mu\text{m}$ 以下の in-vivo 測定用超微小電極の開発に成功しており、生体細胞等を対象とするナノ領域化学の電気化学測定に強力な手段を提供している。

第4章では、超微小電極を用いた定常状態での分極曲線測定から、電極反応速度論的パラメータを決定できる事を明らかにしている。

第5章では、体積相転移現象を示す高分子ゲル中において、相転移前後における物質の拡散定数と濃度の同時決定を行っている。ゲル体の様な従来の電気化学測定が不可能であった系に対しても、マイクロ電極を用いる事により、その物性を解析できる事を明らかにしたものであり、マイクロ電極の有効性を新規な系において実証している。

第6章では、生体細胞の様な1つの独立した微小領域における電気化学測定を目的とした3つの研究から成っている。その結果として(1) マイクロカプセル中での電気化学測定が可能である、(2) 生きている単一細胞（ハネモのプロトプラスト）中でのアンペロメトリーによる溶存酸素濃度測定が可能である、(3) マイクロポテンシオメトリックな測定から微小領域内のイオンセンシングが可能である事等を実証している。特に、(2) は、 $1\sim 10\mu\text{m}$ 程度の大きさを持つ単一細胞内において、アンペロメトリックな測定に初めて成功したものであり、生理電気化学の分野に新しい測定手法の提案を行っている。

第7章は結言である。

以上要するに本論文は、新しいタイプの幾つかの超微小電極を開発し、従来測定困難とされてきた新規分野での電気化学測定法を提案したものであり、応用化学および電気化学の発展に寄与するところが少なくない。

よって、本論文は工学博士の学位論文として合格と認める。