



差動式パームサイズ表面プラズモン共鳴センサを用いた残留農薬ペンタクロロフェノールの検出法について

メタデータ	言語: jpn 出版者: 室蘭工業大学SVBL 公開日: 2007-12-28 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 江口, 哲也, 金木, 則明, 島田, 浩次 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/10258/321

差動式パームサイズ表面プラズモン共鳴センサを用いた 残留農薬ペンタクロロフェノールの検出法について

江口哲也（非常勤講師）、金木則明（助教授）、島田浩次（助手）

1. はじめに

近年、残留農薬(人工低分子有機物)などによる環境汚染が深刻化している。この問題を解決するために表面プラズモン共鳴(Surface Plasmon Resonance: SPR)現象を原理とする装置の小型化、及び化学センサ化が要望されており、昨年、本プロジェクトで差動式パームサイズ SPR センサ (160×100×55 mm) を開発した。

そこで本研究では、この SPR センサの残留農薬に対する基本性能を評価するため、抗体固定による Pentachlorophenol (PCP、分子量：266.34)の検出法について検討を行った。

2. 原理

SPR とは、金属膜を蒸着したプリズムに光を入射させると、プリズム表面において常時発生しているエバネッセント波と金において励起されたプラズモン波が共鳴し、反射光が減少する現象である。SPR 現象を起こす入射角度は溶液試料の誘電率によって変化するので、金属薄膜の表面に測定対象物と相互作用する物質や機能性物質を固定化することにより、様々な有機物質を測定するための化学センサとして構築することができる。

3. 実験方法

3. 1 差動式 SPR センサ

本研究には差動式パームサイズ SPR 現象測定装置を用いた。本装置は、フィールド計測目的として試作された小型の SPR センサであり、温度によるベースラインの変動を軽減するために参照チャンネルと検出チャンネルの 2 チャンネルを持つ。そのため、バックグラウンドの低い信号をえることができる。光源には赤色 LED を用いており、プリズム上に線焦点を結ぶようになっている。この装置の光学系図 1 に示す。

また、検出系は一般にフローセルが用いられるが、今回はフィールド測定に対応するようにセンサセルを用

いた。このセンサ部分を図 2 に示す。

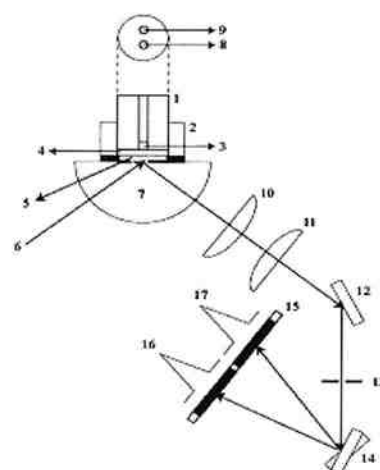


図 1 差動式SPRセンサの光学系

1. SPR sensor, 2. Sensor guide, 3. Sensing membrane, 4. Au base, 5. Matching oil, 6. Incident light, 7. Round prism, 8. Sample, 9. Reference, 10. Syrindrical lens, 11. Flat-convex lens, 12. Reflecting mirror, 13. Slit, 14. Divided mirror, 15. 2048 linear CCD, 16. Sample SPRgram, 17. Reference SPRgram.

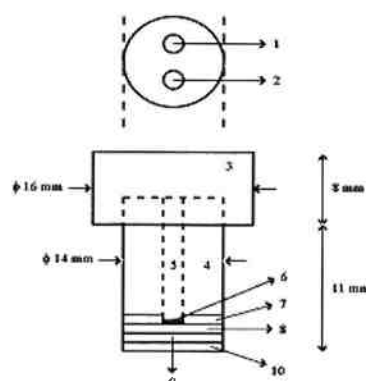


図 2 SPRセンサ

1. Reference cell, 2. Sample cell, 3. Sensor cap, 4. Epoxy sensor body, 5. Cell, 6. Antibody membrane, 7. Silicon plate, 8. Thin gold layer, 9. Cover glass, 10. PVC light interface.

3. 2 自己組織化単分子膜(SAMs)作製法と Anti-Pentachlorophenol(PCP)抗体の固定化

自己組織化単分子膜(Self-Assembled Monolayers : SAMs)の作製には、特殊な装置を必要とせず、チオール溶液中に金基板を浸漬するだけで容易に単分子層を構築できる。最近では、基板結合部位としてチオール基(-SH)のみならず、ジスルフィド基(-SS-)、スルフィド基(-S-)を用いた例や、基板としては金以外に銀、白金や銅などの貴金属、種々の半導体や金属酸化物などを用いた報告もある。基板の種類や浸漬条件(溶媒、濃度、温度、時間)により構造・配向を制御することも可能である。

SAMs の性質は、そのアルキル鎖長や末端の官能基、主鎖の親水性などにより変化させることができ、多彩な機能を固体表面に導入できると期待されている。

○Anti-PCP 抗体の固定化法¹⁾

- ① Piranha 溶液に金薄膜を浸漬後、純水で超音波洗浄し、乾燥する。
- ② 5mM 10-Carboxy-decanethiol エタノール溶液に金薄膜を浸漬後、エタノールで超音波、エタノールの順で洗浄し、乾燥する。この操作によって金表面に SAMs が形成される。
- ③ SAMs 表面を活性化するために、200mM WSC (1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimide) 水溶液に 1 時間浸漬後、純水で超音波、純水の順で洗浄し、乾燥する。
- ④ さらに 50mM NHS(N-Hydroxysulfosuccinimide) 水溶液に 1 時間浸漬後、純水で超音波、純水の順で洗浄し、乾燥する。
- ⑤ 10mg/l または 20mg/l の Anti-PCP buffer 溶液に室温で 1 時間浸漬させ、buffer で洗浄する。
- ⑥ 1M エタノールアミン・HCl 水溶液に 1 時間浸漬させ、buffer で洗浄する。
- ⑦ buffer で 5 倍に希釈したブロッキング溶液に 1 時間浸漬させ、buffer で洗浄し、この抗体が固定化された金薄膜を buffer 中、冷蔵庫で保存した。

4. 結果と考察

10mg/l または 20mg/l の濃度で Anti-PCP 抗体を固定化した金薄膜により、PCP の濃度に対する共鳴角の測定を行った。その結果を図 3 に示す。

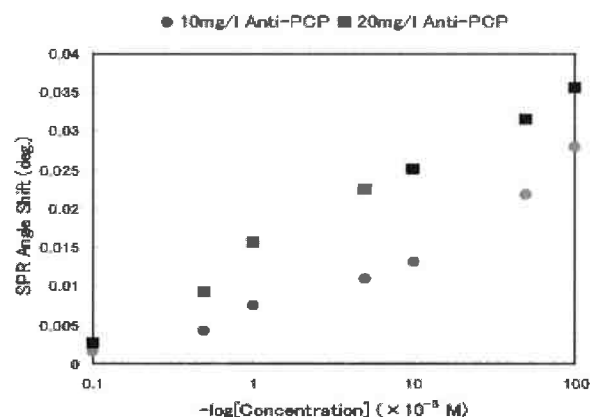


図 3 PCPの濃度変化によるSPR Angle Shift

この図より、Anti-PCP 抗体固定化の際、10mg/l よりも 20mg/l の Anti-PCP buffer 溶液を用いたほうが SPR Angle Shift の感度が若干高いことがわかる。また、だいたい 10^{-5} M (約 2.66 ppm) まで定量性が見られることが示唆された。しかし、携帯型として様々な残留農薬をオンサイト測定する SPR 装置として用いるには、これらのフィールドにおける濃度も低いことから、さらに高感度にする必要がある。この問題については、金や銀のナノ粒子²⁾や抗体超分子^{3),4)}を用いることで検出シグナルを増幅させることができるといふ報告もあり、これらの方法について検討を行っていく必要があると考えられる。

また、実験方法についてであるが SPR 装置にセンサーをセットする際、固定する位置の僅かなずれによってデータがばらつく場合がある。この問題を解決するために現在、新たなセルとホルダーを検討し、開発を行っている。

5. 参考文献

- 1) 青木芳男：パームサイズの差動式表面プラズモン共鳴センサ試作とその性能，九州大学工学部物質科学工学科，卒業論文(平成 15 年度)。
- 2) S. Chah, E. Hutter, D. Roy, J. H. Fendler, and J. Yi, *Chem. Phys.*, 272, 127 (2001)。
- 3) A. Harada, H. Yamaguchi, K. Tsubouchi, and E. Horita, *Chem. Lett.*, 32, 18 (2003)。
- 4) 山口浩靖，原田明，*化学工業*, 4, 249 (2004)。