

多孔性電極材料を用いるフローインジェクション法

埼玉工業大学工学部環境工学科

〒369-0293 埼玉県大里郡岡部町普濟寺 1 6 9 0

内山俊一

Flow Injection Methods Using Porous Electrode Materials

Shunichi Uchiyama

Department of Environmental Engineering, Saitama Institute of Technology, 1690 Fusaiji, Okabe, Saitama 369-0293, Japan

The porous materials such as carbon felt or granite carbon are excellent electrode materials and have also been used as enzyme reactors simultaneously. One of useful features of porous materials is that carrier or sample solution can be flowed through and efficiencies of electrode and chemical reactions are extremely high, and a number of porous materials have been utilized as electrode for detectors in flow injection systems. This report summarizes the recent development of flow-through electrode reactor in flow injection methods.

1. はじめに

カーボン¹⁾は電気化学検出器の電極材料として広く一般的に用いられているが、その多くはグラッシーカーボンやカーボンペーストなど表面あるいは表面近傍のみで検出に必要な電極反応や酵素反応などが生じる非多孔性材料である。これらのカーボン材料は表面積が一定であるという利点があるが、機械的な加工が容易ではなく、再現性の良い結果を得るために定期的に表面を研磨して新しい面を作り出す必要がある。これに対し、多孔性のカーボンであるReticulated vitreous carbon (網目状ガラス状炭素、RVC)、carbon felt (CF)および graphite felt (GF)などのグラファイト系炭素電極は比表面積が大きく²⁾、フロースルー型

の反応層として用いると、有用物質の生産や環境汚染物質の連続的除去など高効率な物質の変換が可能な場を提供することができる。ポーラスであることの利点は大きな電流が得られる以外に試料溶液が電極内部をフロースルーできることにあり、高い効率で完全電解が可能のため、フローインジェクション分析法や液体クロマトグラフィーなどのフローシステムにおける高効率な検出器として利用価値が高く、特に試料が電極を通過中に完全電解する方式の、クーロメトリック検出器に広く用いられてきた³⁾。さらに最近、電解重合法などにより導電性の多孔性カーボンが酸素ガス透過型電極かつ酵素固定用担体としても有用であることが明らかにされてきた。

カーボンファイバーの集合体であるフェルトカーボンはOpen poreの多いスポンジ状のカーボン（比表面積が1g当たり数～数10平方メートル、空隙率90%以上）であるので流体のフローに対して極めて低い抵抗を持つという特徴がある。またバッチ法で用いる場合、多孔性のグラファイト系カーボンは電極の切断、加工が容易であるので一回毎に電極を使い捨てにして用いることができる。本稿は、筆者らが迅速クーロメトリー用電極として使用してきたグラファイト系カーボン電極の各種電気化学的検出法への応用ならびにフローインジェクション分析用検出器への応用に関する最近の動向についてまとめることにする。代表的なカーボン電極の種類と特徴をまとめて表1に示す。

表1 代表的なカーボン電極の種類と特徴

種類	特徴
1) グラッシーカーボン	最も広く用いられている。電極表面の形状が安定、微小化が可能。
2) カーボンペースト	酵素などの生体触媒の固定化が容易。各種酵素反応と電極反応が表面で効率よく進む。
3) 疎水性オイル充填グラファイト	酵素などの生体触媒の固定化が容易。
4) グラファイトフェルト (多孔性カーボン)	試料のフロースルーの可能性、高い反応効率 電極反応層（電気化学リアクター）、固定化酵素リアクターとして用いられる。

2. 多孔性電極による検出

2-1) グラファイト電極によるアンペロメトリック検出

グラファイトのバルクは積層構造をしているが、電子移動の生じるカーボン表面はキノンなど酸素の結合した官能基が多数存在し、試料の電子移動を助ける触媒の働きをしている⁴⁾。従って、試料の種類によっては電極の表面処理による活性化が感度や選択性に極めて大きな影響を与えるので、カーボン表面の電極活性の維持には注意を払う必要がある。実際にカーボンフェルト作製時の焼結条件によって電極反応速度が大きく変わることが明らかにされている⁵⁾。グラファイト系電極は比表面積が大きく、試料やキャリアー液のフロースルーが可能であるという特徴を持つのでフローシステムの検出器として特に有用である⁶⁾。従ってFIAのアンペロメトリックな検出電極として良く用いられ、ワイン中グルコース⁷⁾の測定などに利用されている。なお、カーボンフェルトを電極とするとppb以下の溶存オゾンの測定が可能なセンサーが作製できる⁸⁾。多孔性という性質を利用した光学的に透明なグラファイトコーティング電極も試作されている⁹⁾。最近、薄層の電解セルとRVC電極を連結したフローセルによる高効率な有機物の電解がKissingerらによって報告されている¹⁰⁾。

2-2) 化学修飾グラファイト電極のバイオセンシングへの応用

グラファイト系カーボンは多孔質なため、様々な疎水性オイルを浸み込ませることが可能であり、最近、この疎水性材料に酵素や脂質などの生体関連分子を修飾してグラファイトの空隙に充填した電極の作製が盛んに行われている。Puigらはチロシナーゼを混合したテフロン樹脂をグラファイトにつめてカテコールセンサーを作製し、FIA用検出器として用いた¹¹⁾。そしてテフロンやグラファイトパウダーの混合比とセンサーの応答特性の関係について検討を行っている。疎水性材料としてシリコーンを修飾したグラファイト電極も作製されている¹²⁾。Biancoらは脂質を修飾したグラファイト電極を作製し、負に帯電したフェレドキシンなどの電極反応機構の研究に用いている¹³⁾。Lindgrenらはペルオキシダーゼを修飾したグラファイトフェルトによりカテコールの測定を行った¹⁴⁾。さらにグラファイト-テフロン-ペルオキシダーゼ-フェロセンの4種混合電極による過酸化水素のFIA検出器として有用性に関する報告もある¹⁵⁾。Kauffmannらはグラファイトとポリテトラフルオロエチレンの混合電極による疎水性抗酸化剤のアンペロメトリックなフローインジェクション分析を行い、混合比と応答の関係について調べた¹⁶⁾。Mareikeらはエポキシを詰めたグラファイト電極にチロシナーゼを固定化し、フェノールのフローインジェクション分析用検出器として使用し、キノンの電解還元とチロシナーゼによる酸化反応を組み合わせて得られた触媒電流について検討している¹⁷⁾。

最近、絶縁性のエポキシを空隙に詰めたカーボンフェルトのマイクロ電極がS/N比が良く、大きな測定電流が得られることが明らかにされ、アルコールデヒドロゲナーゼを固

定化した3,4-DHB (3,4-dihydroxybenzaldehyde) 薄膜を電着させたカーボンフェルト電極によるNADH, アルコールのセンサーも作製された^{18,19}。なお、電流検出型のセンサーだけでなく、感応素子をグラファイトに固定したポテンシオメトリックなセンサーも作製されている。ポテンシオメトリックセンサーの例として、エポキシをコーティングしたグラファイトをイオン選択性電極として用いた、鉄(III)の定量²⁰やグラファイト電極を銅(II)イオンのフローインジェクション検出器として用いた研究²¹などがあげられる。

ストリッピング法は電気化学分析法のなかで前電解濃縮が行えるので極めて高感度な測定手段として多くの研究例が報告されているが、グラファイト電極を用いたストリッピング法も報告されている。ビス(ジイソプロピルオキシチオフォスホン)ジスルフィドを化学修飾したグラファイト電極が銀、インジウム、ビスマスなどのアノードックストリッピングの検出器として用いられ、FIAにおけるフロー速度のストリッピングピークに及ぼす影響が検討された²²。なお、タングステンのストリッピングも報告された²³。

2-3) クーロメトリック検出器としての利用

従来より、多孔性のカーボン材料はフロー系に電極反応層として利用され、液体クロマトグラフィーの電量検出器として用いられてきた²⁴。著者らはフローシステムのキャリヤー滴をカーボンフェルト電極でクーロメトリックに検出できる検出器を考案した²⁵。また、バッチ法ではあるが、カーボンフェルト電極が迅速完全電解に極めて有利であることを利用し、実用的なクーロメトリックセルの開発を行ってきた²⁶⁻²⁸。定電位クーロメトリーは従来型セルでは電極を試料液に浸漬させて電解するが、この方式だと大変長時間を要することが難点とされていた。しかし、電解液を浸み込ませたカーボンフェルトに試料を微量添加する方式を採用することにより迅速化でき、さらに酵素反応を用いることにより、生化学的試料も分析対象とすることができた²⁹⁻³¹。

3. 多孔性貴金属電極の利用

最近、ポーラスな貴金属の検出器への利用が行われ始めている。Meyerhoffらはマイクロポーラスな金の電極をフロースルー型検出器としてFIAシステムに導入している³²。また、パラジウムを電着した金のマイクロ電極の集合体電極がアスコルビン酸のFIA用検出器として用いられ、1%以下の高精度で各種飲料中のビタミンC測定が可能であることが示された³³。多孔性パラジウム電極をクーロメトリー用電極として用い、化学的酸素要求量(COD)の測定がJonsonらによって行われたが³⁴、電解時間は数分とカーボンフェルトに比べ1桁長くなっている。これは電極中への試料の拡散速度と多孔性の密度が小さいことに原因があるものと考えられる。なお、白金については多孔性の白金黒電極が既にバ

イオセンサー用検出器として碓山らによって実用化されているが、詳細については成書を参照されたい³⁵⁾。

4. 電気化学フィルターとしての利用

電気化学的に妨害する可能性のある共存物質を電解除去する目的でフローインジェクションシステムにカーボンフェルトリアクターを導入することが試みられている。著者らは尿中尿酸を選択的に絶対量測定するために試料のウリカーゼリアクター通過前後のフロークロメトリーをそれぞれ行い、両者の電気量の差から尿中尿酸の測定を行った³⁶⁾。その後、大川らにより、カーボンフェルトリアクターを電気化学フィルターとして用いるバイオセンサシステムが考案され、血清中尿酸とグルコースの同時定量などに応用している³⁷⁻³⁹⁾。また、最近清涼飲料水中のアスコルビン酸とグルコースの同時定量の報告もされている⁴⁰⁾。これらの研究はいずれもカーボンフェルトがフロースルー型の高効率電解槽として有用であることに着目して行われたものである。

5. ガス透過性酵素リアクターとしての利用

酸素を酸化剤とする酵素反応において、酸素の供給速度が反応を律速することが良くある。特に酵素活性の劣る酵素を用いた場合や高濃度の試料の測定では酸素供給速度を増加させることが感度やダイナミックレンジを増大させることにつながる。そこで最近、カーボンフェルトがガス透過性に優れた材質であるという特徴を生かし、カーボンフェルトに酵素を電解重合で固定したフェルトを酵素反応層として用いたアスコルビン酸⁴¹⁾や尿酸⁴²⁾のセンサーが作製されたが、今後、FIAの検出器としての利用が期待される。

6. フロースルー型酵素リアクター電極としての利用

Mizutaniらはデヒドロゲナーゼを修飾したカーボンフェルトで基質のリサイクリングを行い、感度増幅に利用したが⁴³⁾、最近、グラファイト質のカーボンフェルトに酵素を固定化し、フローシステムの検出デバイスとして利用する試みが行われるようになった。特に、グラファイトに酵素を固定化して高効率な酵素反応と電解反応を同時に同じ場所で行えるリアクターのフローインジェクション法への導入がCammannらによって発表されたのは興味深い⁴⁴⁾。JohanssonらはRVCへNAD⁺類似体と乳酸デヒドロゲナーゼを同時固定したセンサーを作製してFIAの検出器として用い、乳酸の測定を行っており（検出限界1 μM）、補酵素を電極反応と酵素反応でリサイクリングさせて使用している⁴⁵⁾。今後、他の生体触媒を固定したポーラス電極リアクターも作製されると予想される。

7. おわりに

以上述べたように、多孔性の電極材料は電気信号のトランジューサーとしてだけでなく、酵素反応などの生体触媒反応リアクターとしても大変有用な反応場を提供する。特に安価な多孔性カーボンはフローインジェクション分析法における電流、電位、電気量などの電気信号測定用材料としての有用性がそれぞれ確かめられている。また、金の多孔性材料はチオールを介したタンパクの固定化が容易に行える点で大変貴重であり、その利用については今後研究が新しい展開を迎えるものと予想される。いずれにしても比表面積が大きく、溶液がフロースルー可能であるという優れた特徴を有する多孔性材料を利用したフローシステムのセンシング技術は今後ますます広く用いられていくものと期待される。

文献

- 1) J. Wang, "Analytical Electrochemistry", VCH Publishers, p.84 (1994)
- 2) P.T.Kissinger, W.R.Heineman, edited "Laboratory Techniques in Electroanalytical Chemistry", Marcel Dekker, p.316 (1997)
- 3) 内山俊一編 "高精度基準分析法 - クーロメトリーの基礎と応用 -" 学会出版センター (1998)
- 4) R.L.McCreery, "Carbon electrodes: structural effects on electron transfer kinetics" in *Electroanalytical Chemistry Vol.17*, Marcel Dekker, pp.221-374 (1991)
- 5) 浜本修、中村幸夫、内山俊一、保母敏行、*分析化学*, **40**, 617-622 (1991)
- 6) Z.Chen, P.W.Alexander, *Anal. Lett.*, **31**, 13 (1998)
- 7) M.A.del Cerro, G.Cayuela, A.J.Reviejo, J.M.Pingarron, J.Wang, *Electroanalysis*, **9**, 1113 (1997)
- 8) S. Uchiyama, T. Ikarugi, M. Mori, K. Kasama, Y. Ishikawa, A. Umezawa, *Electroanalysis*, **5**, 121-124 (1993)
- 9) M.Kummer, J.R.Kirchhoff, *Electroanalysis*, **8**, 524 (1996)
- 10) H.G.Jayaratra, L.Yang, T.Huang, C.S.Bruntlett, P.T.Kissinger, *Electroanalysis*, **9**, 1163 (1997)
- 11) D.Puig, T.Ruzgas, J.Emmeus, L.Gorton, G.Marko-Varga, D.Barcelio, *Electroanalysis*, **8**, 885 (1996)
- 12) P.Hernandez, Y.Ballesteros, F.Galan, L.Hernandez, *Electroanalysis*, **8**, 941 (1996)
- 13) P.Bianco, J.Haladjian, *Electroanalysis*, **7**, 442 (1995)
- 14) A.Lindgren, J.Emmeus, T.Ruzgas, L.Gorton, G.Markovarga, *Anal. Chim. Acta*, **347**, 51 (1997)
- 15) M.A.d.Cerro, G.Cayuela, A.J.Reviejo, J.M.Pingarron, J.Wang, *Electroanalysis*, **9**, 1113 (1997)
- 16) E.Diego, L.Agui, A.G-Cortes, P.Y.-Sedeno, J.M.Pingarron, J.-M. Kauffmann,

- Electroanalysis*, **10**, 33 (1998)
- 17) E.S.Mareike Luiz, E. Dominguez, *Electroanalysis*, **8**, 117 (1996)
 - 18) F.Pariene, E.Lorenzo, H.A.D.Arbruna, *Anal. Chem.*, **66**, 4337 (1994)
 - 19) F.Pariene, E.Lorenzo, T.Tobalina, H.D. Abrua, *Anal. Chem.*, **67**, 3936 (1995)
 - 20) M.F.de S.Teixeira, A.Z.Pinto, O.F.-Filho, *Anal. Lett.*, **30**(3), 417 (1997)
 - 21) Z.Chen., P.W.Alexander, *Anal. Lett.*, **31**(1), 13 (1998)
 - 22) Z.I.Denchev, N.K.Nikolov, L.Ilcheva, *Talanta*, **44**, 749 (1998)
 - 23) N.A.Malakhova, G.N.Popkova, G.Wittmann, L.N.Kalnichevskaja, K.Z.Brainina, *Electroanalysis*, **8**, 375 (1996)
 - 24) 高田芳矩、電気化学, **62**, 1 (1994)
 - 25) S.Uchiyama, O.Morohoshi, *J. Flow Injection Anal.*, **8**, 32 (1991)
 - 26) S.Uchiyama, M.Ono, S.Suzuki, O.Hamamoto, *Anal. Chem.*, **60**, 1835 (1988),
 - 27) S.Uchiyama, T.Obokata, S.Suzuki, O.Hamamoto, *Anal. Chim. Acta*, **225**, 425 (1989)
 - 28) S.Uchiyama, Y.Kobayashi, S.Suzuki, O.Hamamoto, *Anal. Chem.*, **63**, 2259 (1991)
 - 29) S.Uchiyama, S.Kato, S.Suzuki, O.Hamamoto, *Electroanalysis*, **3**, 59 (1991)
 - 30) M.Oishi, K.Onishi, M.Nishijima, K.Nakagomi, H.Nakazawa, S.Uchiyama, S.Suzuki, *J. Assoc. Off. Anal. Chemist*, **75**, 507 (1992)
 - 31) M.Fukaya, H.Ebisuya, K.Furukawa, S.Akita, Y.Kawamura, S.Uchiyama, *Anal. Chim. Acta*, **306**, 231-236 (1995)
 - 32) M.W.Duecy Jr., M.E.Meyerhoff, *Electroanalysis*, **10**, 157 (1998)
 - 33) R.C.Matos, M.A.Augelli, J.J.Pedrotti, C.L.Lago, L.Angnes, *Electroanalysis*, **10**, 887-890 (1998)
 - 34) K.I.Pamplin, D.C.Jonson, *Electroanalysis*, **9**, 280 (1997)
 - 35) 軽部征夫編著 "バイオセンシング" 啓学出版 (1988)
 - 36) S.Uchiyama, T.Obokata, S.Suzuki, O.Hamamoto, *Anal. Chim. Acta*, **225**, 425 (1989)
 - 37) Y.Okawa, H.Kobayashi, T.Ohno, *Chem., Lett.*, **1991**, 849.
 - 38) Y.Okawa H.Kobayashi, T.Ohno, *Sens. Actuators B*, **13-14**, 541 (1993)
 - 39) Y.Okawa, H.Kobayashi, T.Ohno, *Anal. Chim. Acta*, **315**, 137 (1995)
 - 40) 大川祐輔、小林裕幸、大野隆司、分析化学, **47**, 443 (1998)
 - 41) S.Uchiyama, H.Sakamoto, *Talanta*, **44**, 1435 (1997)
 - 42) S.Uchiyama, Y.Hasebe, M.Tanaka, *Electroanalysis*, **9**, 176 (1997)
 - 43) F.Mizutani, S.Yabuki, *Sens. Actuators B*, **24-25**, 750 (1995)
 - 44) M.Khayyami, N.P.Garcia, P.Larsson, B.Danielsson, G.Johansson, *Electroanalysis*, **9**, 523 (1997)
 - 45) U.Rudel, O.Geschke, K.Cammann, *Electroanalysis*, **8**, 1135 (1996)



(Received November 16, 1998)