

機能性材料を使用した電気化学法による環境汚染物質の新規検出法および修復法の開発

地球環境科学研究科 COE 研究員 照井 教文
担当教官 田中 俊逸

1. はじめに

環境中の物質循環が複雑化している現在、環境中に微量に存在する汚染物質を対象とした検出および修復法の開発は非常に重要である。溶液中に低濃度で存在する汚染物質を効率的に検出、分解するためには、局所的、選択的に捕集・濃縮する必要があるが、これには電気化学的手法が非常に有効である。電気化学的手法は準備や操作が比較的簡便であり、酸化剤等の化学試薬を使用しないため2次汚染の心配がない。また、電極電位を制御しながら溶液中に存在する目的物質の酸化還元反応を起こすため、選択的な汚染物質の検出・分解が可能である。さらに様々な機能性材料で電極を作製もしくは電極表面を修飾することにより、電極反応をより効率化、機能化することが可能である。そこで本研究では選択的検出や捕集・分解に有効な機能性材料を使用した電極を開発し、環境中に低濃度で存在する汚染物質を検出し、無害な状態に分解する手法を確立することを目的とする。

今回は、1) カーボンナノチューブ修飾電極の作製と特性評価, 2) DNA 修飾電極の作製と特性評価, 3) カーボンファイバー束電極を利用した環境汚染物質の除去について現在までに得られた知見と今後の展開について報告する。

2. カーボンナノチューブ修飾電極の作製と特性評価

2-1 はじめに

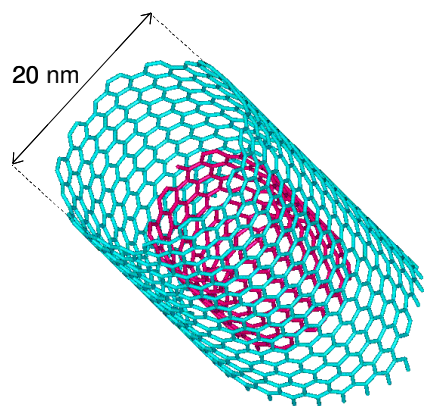


図1 MWNT(二層)のモデル図

カーボンナノチューブは近年、注目を集めている新規機能性材料であり¹⁾、構造の違いにより単層カーボンナノチューブ(SWNT)と多層カーボンナノチューブ(MWNT)に分類される。SWNT は一枚のグラファイトシートを円筒状に巻いた構造であり、直径は数 nm、長さは数十 nm から数 μm である。MWNT (図1) は複数のチューブが同心円状に重なった構造であり、直径は数十 nm になる。カーボンナノチューブの特性として、強度が高くかつ柔軟であること、化学的に安定であること、重量に対して表面積の割合が高いこと、高い導電性を持ち、構造の変化により半導体的になることなどが挙げられる。近年ではこれらのカーボンナノチューブの特性を応用して、金属タンパク質などの生体物質を対象とした生化学の分野や、分析化学や環境科学の分野でも研究が行

われている。特にダイオキシンやビスフェノール A 等の芳香族有機化合物に対して高い捕集効果があることが知られている^{2, 3)}。したがって、カーボンナノチューブを材料とした機能性電極を作製することにより、環境中の汚染化学物質や生体関連物質を対象とした、従来手法よりも非常に高感度、高精度な電気化学センサー、および環境中に低濃度に存在する物質の処理法の開発が期待される。そこで導電性ポリマーにカーボンナノチューブを分散したフィルムで修飾した電極を作製し、その特性評価を行った。

2-2 カーボンナノチューブ電極の作製

本研究ではMWNTが用いられた。MWNTは濃硝酸中で20時間加熱することにより切断され、その先端部分が酸化されてカルボキシル基が導入される。これにより溶媒への可溶性と、電極としての反応性が高くなる。硝酸処理済みのMWNTを用いて0.5% Nafionのメタノール溶液に1mg/ml MWNTとなるように分散させた。Nafionはペルフルオロスルホン酸系の陽イオン交換

体であり、MWNT を均一に分散させて電極表面への安定な修飾を可能にし、検出限界を決定する要因となる充電電流を低減する。この MWNT/Nafion 溶液 20 μl を、鏡面研磨したグラッシーカーボン (GC) 電極 (直径 3mm) に滴下し、20 分乾燥させたものを MWNT 修飾 GC 電極として使用した。

2-3 カーボンナノチューブ電極上での 17- β エストラジオールの電極挙動

測定対象としてエストロゲン様化学物質である 17- β -エストラジオール (E2) を使用した。E2 は人畜由来の女性ホルモンであり、環境中で内分泌攪乱作用を疑われているエストロゲン様化学物質の一種である (4-1 参照)。

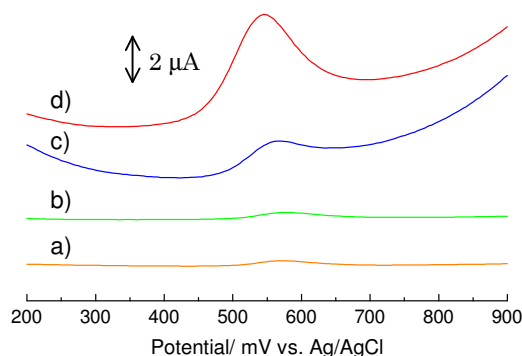


図2 E2 の方形波ボルタモグラム

振幅 25 mV、ステップ電位 5 mV、周波数 5 Hz

- a) 未修飾 GC 電極、 $t_{ac}=0$
- b) 未修飾 GC 電極、 $t_{ac}=30$ 分
- c) MWNT 修飾 GC 電極、 $t_{ac}=0$
- d) MWNT 修飾 GC 電極、 $t_{ac}=30$ 分

$t_{ac}=30$ 分では $I_p=3.9 \times 10^{-6}$ A とさらに増加した。これは電極上の MWNT に E2 が集積されたことを示し、30 分の集積時間で 4.2 倍、未修飾の GC 電極に対しては 15 倍も検出感度が増加した。

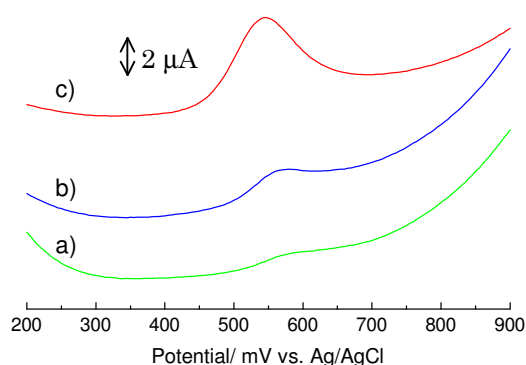


図3 E2 の方形波ボルタモグラム

振幅 25 mV、ステップ電位 5 mV、周波数 5 Hz

- a) $[\text{E}2] = 10^{-7}$ M、 $t_{ac}=30$ 分
- b) $[\text{E}2] = 10^{-6}$ M、 $t_{ac}=30$ 分
- c) $[\text{E}2] = 10^{-5}$ M、 $t_{ac}=30$ 分

未修飾の GC 電極および MWNT 修飾 GC 電極で測定した 10^{-5} M E2 溶液 (0.1 M リン酸溶液、pH 7) の方形波ボルタメトリー (SWV) の波形を図 2 に示す。SWV は電気化学測定法のなかでもっとも高感度検出が可能な手法である。得られた波形において 550mV 付近に E2 の酸化に対応する電流ピークが観測された。電流ピークの値 (I_p) は電極表面で反応した E2 の物質質量に対応する。未修飾 GC 電極では溶液に電極を浸漬した直後 (浸漬時間、 $t_{ac}=0$) における I_p は 2.6×10^{-7} A であり、 $t_{ac}=30$ 分でも I_p の増加、つまり電極への E2 の捕集は観測されなかった。一方、MWNT 修飾 GC 電極では $t_{ac}=0$ において $I_p=9.1 \times 10^{-7}$ A であり、MWNT の修飾により約 3.5 倍感度が上昇した。これは MWNT 修飾により有効電極面積が増加したためと考えられる。

図 3 に MWNT 修飾 GC 電極で測定した 10^{-5} ~ 10^{-7} M E2 溶液 (0.1M リン酸溶液、pH 7) の SWV を示す。E2 濃度の減少とともに I_p も減少したが、 10^{-7} M でもピークが観測された。したがって現在の測定条件でも $\sim 10^{-7}$ M までの E2 の検出が可能であると考えられる。

2-4 今後の展開

カーボンナノチューブの処理法、修飾電極の作製法、測定条件の最適化や電極での反応機構の解明が必要である。また、SWNT やカーボナノホーンなど構造や特性が異なるカーボンナノチューブを使用することにより、新たな特性が付与されることが期待される。

3. DNA 修飾電極の作製と特性評価

3-1 はじめに

一般的に DNA と化学物質との結合にはインターカレーション、グルーヴバインド、共有結合による架橋という 3 つの主要な様式がある。特に多環式芳香族炭化水素、芳香族アミンのような発癌性の環境汚染物質や抗癌性抗生物質の多くは数個の芳香環を含む平面有機分子であることか

ら、DNA とインターカレート、つまり平行に配列した塩基対平面間に挿入されることにより結合する。そこで電極表面修飾剤として DNA を利用した環境汚染物質の高感度、高選択的な電気化学的検出法の開発を検討した。

3-2 DNA-アルギン酸修飾電極の作製

DNA の溶液中での安定性および機能性生体材料としての発展性を考慮して、本研究では DNA と多糖類であるアルギン酸との複合体を使用した。また、DNA-アルギン酸複合体の電極表面への固定は透析膜電極法を使用した。透析膜電極は透析膜の分画分子量より大きい分子量を持つ物質（本研究では DNA）を透析膜と電極表面の間に局在させることにより分析対象物質を電極表面に濃縮することができるため、電極表面と直接相互作用しない物質でも修飾剤として使用することが可能となる。

電極は直径 3 mm の GC 電極を使用した。0.1 M Tris 緩衝液 (pH 7.0) に 5 mg/ml アルギン酸ナトリウムと 1.25 mg/ml サケ精巣由来 DNA を溶解した修飾液 (アルギン酸 : DNA = 4 : 1) を電極表面上に 3 μ l 滴下し、その上から分画分子量が 10000 の透析膜で被覆、固定した。この電極を 1%塩化カルシウム溶液に浸漬し、透析膜と電極間に存在するアルギン酸をポリマー化した後、水中で 1 時間洗浄したものを DNA-アルギン酸修飾膜電極とした。同様の手法で DNA を含まないアルギン酸修飾膜電極、また透析膜だけの電極も作製した。

3-3 DNA-アルギン酸修飾電極による臭化エチジウムの測定

DNA-アルギン酸修飾膜電極の基本的な特性を検討するため、DNA とインターカレートする代表的な物質である臭化エチジウム (EtBr) の電気化学応答について検討した。DNA-アルギン酸修飾電極、アルギン酸修飾電極および透析膜だけの電極を 10^{-4} M EtBr を含む 0.1 M Tris 緩衝液 (pH 7.0) に 30 分間浸漬し、その後 0.1 M Tris 緩衝液に 10 分間浸漬して非特異的に吸着した EtBr を除去した。これらの電極を再び 0.1 M Tris 緩衝液に配置して測定したサイクリックボル

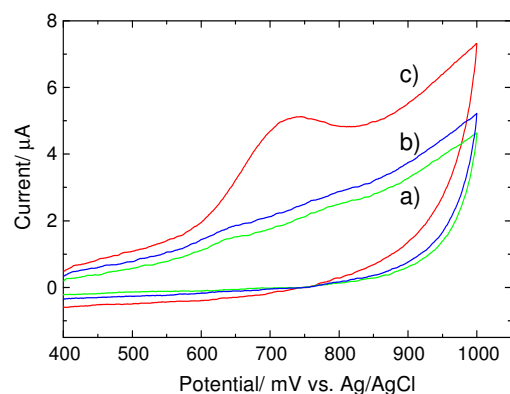


図4 EtBr のサイクリックボルタモグラム
[EtBr] = 10^{-4} M、0.1 M Tris、pH 7、
掃引速度 0.1 V s^{-1}
a) 透析膜 GC 電極
b) アルギン酸-透析膜 GC 電極
c) DNA-アルギン酸-透析膜 GC 電極

タモグラムを図 4 に示す。DNA-アルギン酸修飾電極では 750 mV 付近に EtBr の酸化に対応する電流ピークが観測されたが、アルギン酸修飾電極および透析膜だけの電極ではそのような電流値の変化は観測されなかった。DNA-アルギン酸修飾電極では EtBr を含まない溶液中で EtBr の酸化が観測されたこと、またアルギン酸修飾電極および透析膜だけの電極では EtBr の酸化が観測されなかったことから、EtBr は透析膜中の DNA と特異的に相互作用、おそらくインターカレートし、DNA と結合した EtBr は GC 電極と酸化還元反応することが明らかとなった。 10^{-4} M EtBr、集積時間 30 分の条件で観測されたピーク電流値は 1.7×10^{-6} A であったことから、現状の条件でも $\sim 10^{-6}$ M の EtBr が検出可能であると考えられる。

3-4 今後の展開

DNA-アルギン酸修飾膜電極を作製し、DNA とのインターカレーターである EtBr の直接的な電気化学的検出を行った。今後、DNA-アルギン酸修飾膜電極の電気化学的特性や分光学的手法を併用した DNA との結合様式、および測定条件の最適化による検出限界の向上についてより詳細に検討する。また、EtBr のような電気化学的に活性な物質だけではなく、電気化学的に不活性な環境汚染物質についても電気化学的に検出可能とする手法についても検討する。

4. カーボンファイバー束電極を利用した環境汚染物質の除去

4-1 はじめに

17 β -エストラジオール (E2、図5) などのエストロゲン様化学物質は \sim ng/l という低濃度で生活廃水などの環境中に存在しており、野生動物の生殖機能に与える影響が懸念されている。しかし、従来の下水処理施設では生物的酸素要求量 (BOD) の低減や浮遊物質の除去、および消毒を主な目的としているため、E2 は効率的には除去されていない。そこで本研究では電極表面への電気化学的捕集法を用いて溶液中の E2 の効率的な除去法の開発を検討した。

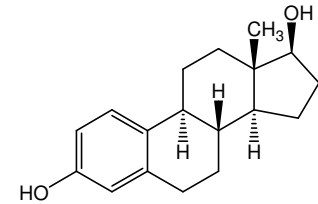


図5 17 β -エストラジオール

4-2 17 β -エストラジオールの電気化学的挙動

E2 の電気化学的挙動についての基礎的な知見を得るため、溶液中での E2 の多重サイクリックボルタモグラムの測定した。図6に作用電極として GC 電極 (直径 3 mm) を使用して測定した 1 mM E2 水溶液 (0.1M KCl, pH 1.0) の多重サイクリックボルタモグラムを示す。1 回目の掃引において E2 の酸化に由来する不可逆ピークが 900 mV 付近で確認できたが、連続して測定した 2 回目以降の掃引ではピークが完全に消失した。電極応答の失活は電極を洗浄しても回復しなかったことから、電極表面が不活性になったと考えられる。一般に、フェノールは 1 電子 1 プロトン反応によって生成されるラジカル種を経由して重合反応が進行し、電極表面に絶縁性ポリマー膜を形成する⁴⁾。E2 の場合も分子骨格内にフェノール性水酸基を有していることから、類似した重合反応により絶縁膜を形成することが考えられる。

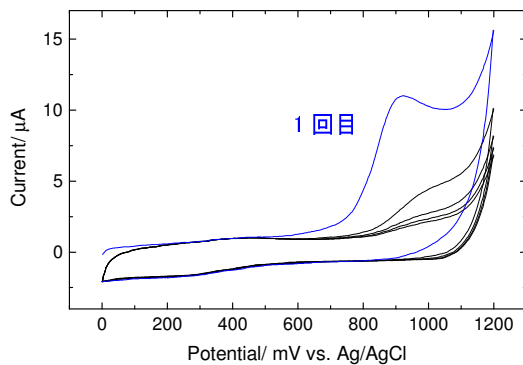


図6 E2 の多重サイクリックボルタモグラム
[E2] = 1 mM, 0.1 M KCl, pH 1、
掃引速度 0.05 Vs⁻¹
作用電極: GC 電極 (直径 3 mm)

4-3 カーボンファイバー束電極を用いた 17 β -エストラジオールの電気化学的除去

上記で得られた知見から、電気化学的捕集による溶液中の E2 の除去を行った。作用電極はカーボンファイバー (直径 0.5 mm、長さ 7 cm) を 100 本束ねたカーボンファイバー束電極 (CFEs、重さ 0.48 g、面積 650 cm²) を使用した。CFEs は、伝導性が優れ安価であり、容易に電極表面積を大きくすることができるため、効率的な E2 の除去が可能である。電気化学的除去は、攪拌している E2 溶液 (0.1M KCl, pH 1.0) に CFEs を浸漬し、0~1.2V の定電位 (E_{app}) を印加して行った。溶液中の E2 濃度は HPLC で測定した。

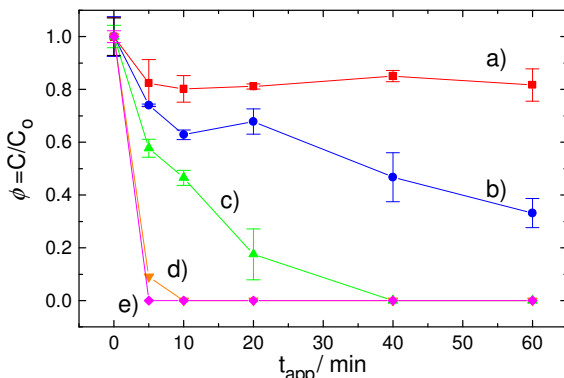


図7 残存率 ϕ vs. t_{app} の E_{app} 依存性
[E2] = 10⁻⁶ M, 0.1 M Tris, pH 7
a) E_{app} = 0 V, b) E_{app} = 0.7 V, c) E_{app} = 0.8 V
d) E_{app} = 0.9 V, e) E_{app} = 1.0 V

図7に CFEs に電位を印加した後に溶液中に残存する E2 の割合 (残存率、 $\phi = C/C_0$ 、 C_0 は E2 の初濃度、 C は時間 t における E2 の濃度) を電解時間 (t_{app}) に対してプロットしたものを示す。 $C_0 = 1.0 \times 10^{-6}$ M のとき、 $E_{app} = 0$ V では、 $t_{app} = 60$ 分で $\phi \sim 0.8$ であった。図6から $E_{app} = 0$ V では E2 の酸化が起こらないにもかかわらず、溶液中の E2 の約 20% が除去されたことから、E2 の酸化に関係なく電極表面への吸着が起こったと考えられる。同様の傾向は $E_{app} = 0.1 \sim 0.6$ V でも観測された。E2 の酸化がおこる $E_{app} \geq 0.7$ V では、 E_{app} の増加に伴い ϕ も減少した。これは E2 の酸化反応により電極表面へ捕集されたためと考えられる。

$E_{app} \geq 0.8 \text{ V}$ では $t_{app}=60$ 分で溶液中の E2 はほぼ完全に除去された。さらに $E_{app} \geq 0.9 \text{ V}$ では E2 の除去速度が増加し、 $t_{app} \sim 10$ 分で $\phi \sim 0$ となった。E2 の電極反応の解析から、 $E_{app} \geq 0.9 \text{ V}$ では CEFs 表面への E2 の捕集だけではなく、捕集した E2 重合体の分解反応が進行している可能性が示唆された。 C_0 を変えて同様の実験を行ったところ、 $C_0 = 10^{-4} \sim 10^{-6} \text{ M}$ の広い濃度範囲で本手法による E2 の電気化学的除去が可能であることが明らかとなった。

4-4 今後の展開

CEFs を使用することにより、溶液中の E2 を除去できることは実証されたが、電極表面で起きている E2 の反応機構について詳細に検討する必要がある。また、実際の環境中の E2 に適用するためにはさらに低い濃度でも、濃縮除去が可能か検討する必要がある。これを達成するには電極修飾や電解方法などさらなる機能化が必要であり、この面からの検討も加えたい。

5. まとめ

本研究で作製したカーボンナノチューブ修飾電極や DNA-アルギン酸修飾電極が実際に環境汚染物質に対する電極として使用しうる可能性が実証されたが、いまだ基礎的な段階である。また、カーボンファイバー束電極を使用することにより 17β -エストラジオールの電気化学的除去を行ったが、実試料へ適用するためにはまだ検討が必要である。しかし、現在までに得られている結果は更なる発展を期待させるものであり、環境中に低濃度で存在する汚染物質の電気化学的な捕集・分解法の確立に向けて研究を行っていく所存である。

6. 公表論文等

照井教文、田中俊逸、“カーボンナノチューブを利用した環境の分析と修復”, *ぶんせき*, **3**, 158-159 (2004).

参考文献

- 1) T. Masciangioli, W. Zhang, *Environ. Sci. Technol.*, **37**, 102A-108A (2003).
- 2) R. Q. Long, R. T. Yang, *J. Am. Chem. Soc.*, **123**, 2058-2059 (2001).
- 3) Y. Cai, G. Jiang, J. Liu, Q. Zhou, *Anal. Chem.*, **75**, 2517-2521 (2003).
- 4) L. Hernandez, P. Hernandez, V. Velasco, *Anal. Bioanal. Chem.*, **377**, 262-266 (2003).