

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の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。以下に、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

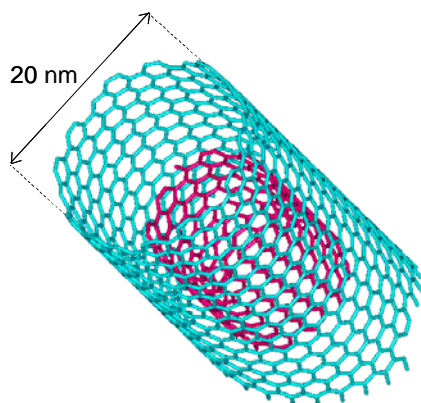


図1 MWNT(二層)のモデル図

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、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の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。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で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、カルバメート系農薬の電気化学測定に対する特性評価を行った。

カルバリル(図2)などのカルバメート系農薬は多くの食品に対して残留基準値あるいは環境基準値が設定されており、GC、GC/MS あるいは HPLC での測定が一般的であるが、農薬の熱的不安定性や複

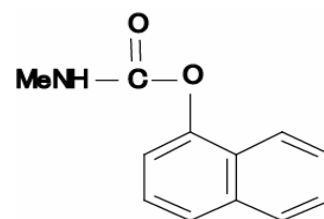


図2 カルバリルの構造

雑な前処理などから、より簡便で高感度である電気化学的手法を用いた分析法が注目されている。しかし、カルボフラン、カルバリルの検出電位は高電位側にあり容易に検出できない。そこで本研究では CNT 修飾電極を使用し、カルバメート系農薬の加水分解生成物を測定することにより、検出感度の向上を達成した。また、河川水サンプル中のカルバメート系農薬の測定に適用した。

2 - 2 カーボンナノチューブ電極の作製および電気化学測定

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 水溶液に 1mg/ml MWNT となるように分散させた。この MWNT/Nafion 溶液を、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、オーブンで乾燥させたものを MWNT 修飾 GC 電極として使用した。カルバメート系農薬の加水分解反応は、農薬を含む試料溶液に 0.5 M NaOH および 0.5 M NaClO₄ を加え、10 分間静置した後、酢酸を加えて pH5 に調整した。河川水試料は特に前処理をせず、加水分解反応を行ってから測定した。

2 - 3 カーボンナノチューブ電極上でのカルバメート系農薬の電気化学測定

CV においてカルボフランの酸化ピークは 1390 mV 付近に観測されたが、加水分解反応を行ったカルボフラン溶液では 450 mV 付近にシフトした。これは加水分解によりカルボフランにフェノール基が導入されたためであり、これにより電流ピークの検出がより容易となった。また、MWNT を修飾することにより、未修飾の電極と比較して ~4 倍の電流ピーク値の増加が見られた。

カルバリルの加水分解生成物であるナフトールに対して電極集積時間、pH 依存性、濃度依存性についての検討を行った。MWNT 修飾電極を pH 5 の溶液に 5 分間集積して測定した結果 (図 3) 1-25 μ M の範囲でピーク電流値の直線性が確認された。この方法を用いてカルバリルが 1 μ M となるように調製した河川水試料を測定したところ、妨害物質の影響は低く、直接的な電気化学測定が可能であった。

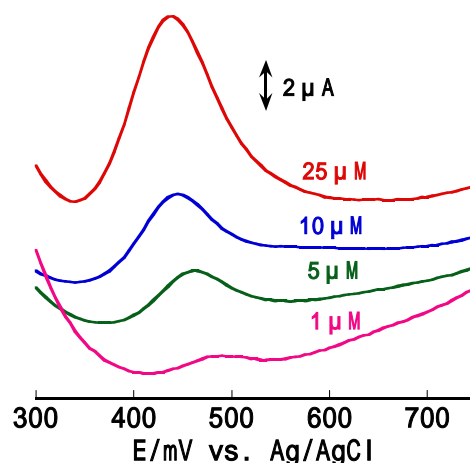


図3 加水分解後のカルバリルの方形波ボルタメトリー (集積時間 5 分、pH 5)

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 やカーボン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 サケ精巢由来 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を作製した。

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 5×10^{-5} 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の 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。 5×10^{-5} 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 $\sim 10^{-7}$ M の EtBr が検出可能であると考えられる。

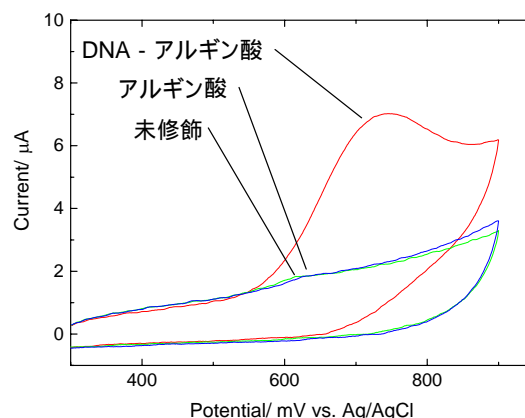


図4 EtBr のサイクリックボルタモグラム
[EtBr] = 10^{-4} M, 0.1 M Tris, pH 7,
掃引速度 0.1 Vs^{-1}

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-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 $\sim \text{ng/l}$ という低濃度で生活廃水などの環境中に存在しており、野生生物の生殖機能に与える内分泌攪乱作用の危険性が指摘されている。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。本研究では、E2 が電極表面上での酸化反応により電気化学的活性を失い、電極表面上に集積する性質を持つことを利用して、電位の印加による水溶液中からの E2 の除去法を検討した。

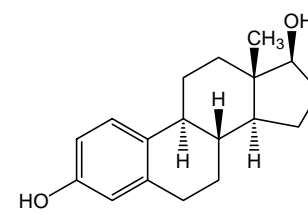


図5 17-エストラジオール

4 - 2 実験方法

作用電極としてカーボンファイバー (直径 0.5 mm、長さ 7cm) を 100 本束ねた電極 (CFEs)、参照電極に Ag/AgCl 電極、対極に白金メッシュをそれぞれ用いた。溶液中の E2 の除去処理は、50 mL の 0.1 M KCl を含む E2 水溶液 ($10^{-7} \sim 10^{-4}$ M、pH 5.2) に CFEs を配置し、溶液を攪拌しながら一定電位 (E_{app}) を印加した。溶液中の E2 は LC-UV、LC-MS で測定した。全ての測定は室温で行った。

4 - 3 E2 の電気化学的挙動

グラッシーカーボン電極で測定した 1 mM E2 水溶液 (0.1M KCl) の多重 CV (図6) において、1 回目の掃引で E2 の酸化に由来する不可逆ピークが 600 mV 付近で確認できたが、2 回目以降の掃引では減少した。これは E2 の酸化生成物が集積し、電極表面が不活性になったためと考えられる。次に $E_{\text{app}} = 0 \sim 1.2$ V を 30 分間印加して E2 の電解を行った後、 $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ の CV を測定し、電極表面への E2 集積の E_{app} 依存性を評価した。E2 が酸化可能である $E_{\text{app}} = 0.6 \sim 0.8$ V で、 $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ の電流値が減少したことから E2 の集積が確認できた。しかし、 $E_{\text{app}} = 1.0$ V 以上では E2 の集積が起らなかった。これは電極表面上で O_2 が発生して E2 の集積を阻害しているためと考えられる。作用電極に 1 本の CFE を用いた場合も同様の挙動を示した。

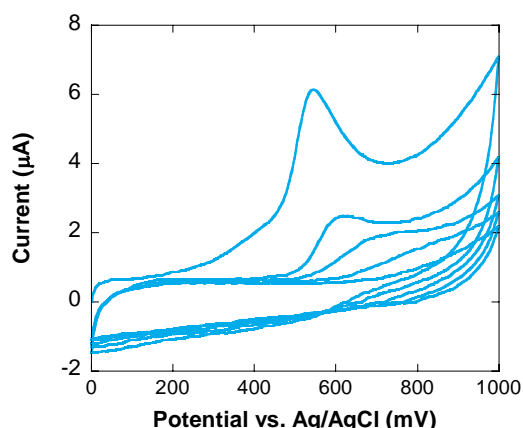


図6 E2 の多重サイクリックボルタモグラム
[E2] = 1 mM、pH 7.0、掃引速度 0.05 Vs⁻¹

4 - 4 CFEs による E2 の除去

10^{-5} M E2 溶液中で CFEs を作用電極として E2 集積を行い、溶液中に残留している E2 の濃度を LC-UV で測定した。 $E_{\text{app}} = 0.6, 0.8, 1.0, 1.2$ V における溶液中の E2 濃度の処理時間に対する変化 (図7) から、 E_{app} が大きいほど溶液中の E2 濃度は速く減少した。

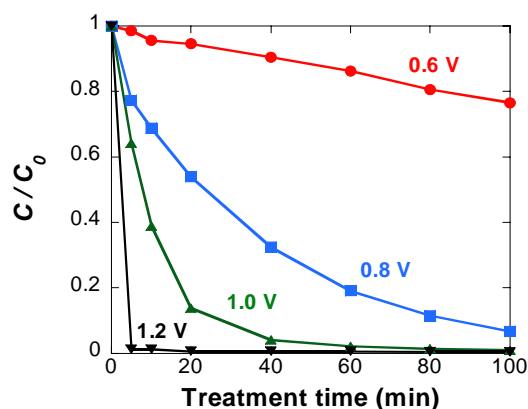


図7 処理時間に対する残存率 ($=C/C_0$) の E_{app} 依存性、[E2] = 10^{-5} M、0.1 M Tris、pH 1.0

しかし、LC-UV、LC-MSの結果から $E_{app} = 1.0, 1.2$ V では溶液中に副生成物が存在していることが確認された。副生成物が生成せず E2 の除去速度が大きい $E_{app} = 0.8$ V では、140 分間の処理時間でほぼ 100 % の E2 が溶液から除去された。 10^{-7} M の E2 を含む河川水へ本法を適用したところ (図 8) 約 80 分間で溶液中から E2 を除去することが可能であった。

4 - 5 CFEs の再活性化

E2 を集積させた CFEs に -1.60 V の電位を印可し、 H_2 を発生させることにより、CFEs の再生を行ったところ、60 分間の電位印加により ~90% まで処理効率が回復した。

4 - 6 今後の展開

CFEs 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 17 β -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するものであり、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う。

6. 公表論文等

論文 (査読あり)

Lin, Yong-Bo; Fugetsu, Bunshi; Terui, Norifumi; Tanaka, Shunitz;

Removal of organic compounds by alginate gel beads with entrapped activated carbon.

Journal of Hazardous Materials (2005), 120(1-3), 237-241.

Terui, Norifumi; Fugetsu, Bunshi; and Tanaka, Shunitz;

Voltammetric Behavior and Determination of 17 β -estradiol at Multi-wall Carbon Nanotube-Nafion Modified Glassy Carbon Electrode

Analytical Sciences, in printing.

Matsumoto, Yuko; Terui, Norifumi; and Tanaka, Shunitz;

Electrochemical Detection and Control of the Interaction between DNA and Electroactive Intercalator using DNA-alginate Complex Film Modified Electrode.

Environmental Science & Technology, accepted.

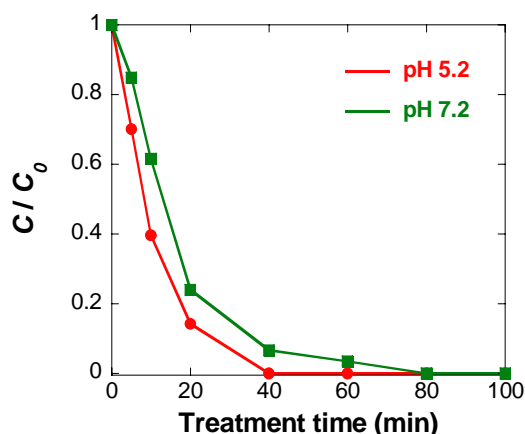


図 8 河川水中の E2 における処理時間に対する残存率(=C/C₀)変化、[E2] = 10⁻⁷ M

論文（査読なし）

古月文志、照井教文、田中俊逸：

カーボンナノチューブの環境浄化への応用、*エコインダストリー*（2005）、10(11)、26-30.

田中俊逸、照井教文、古月文志：

炭素ナノ材料の融合による環境の検出と修復 - CNT,CF,AC との融合を目指して - 、*未来材料*、5(2)、8-13 (2005).

口頭発表等

照井教文、徳光 藍、吉田 航、田中俊逸

カーボンナノチューブを利用した環境汚染物質の電気化学分析

第 67 回分析化学討論会、秋田、2006 年 5 月 13～14 日

照井教文、鈴木肖子、道見康弘、倉光英樹、田中俊逸

カーボンファイバー電極束を利用した 17β -Estradiol の電気化学的除去法の検討

電気化学会第 73 回大会、八王子、2006 年、4 月 1～3 日

照井教文、佐々木真、田中俊逸

界面活性剤を用いた固定化 DNA の吸着特性

日本分析化学会第 54 年会、名古屋、2005 年 9 月 14 日～16 日

他 9 件