

環境モニタリングのための流れ分析用ポーラログラフィック検出器の開発と評価

山田明文[®], 程内和範^{*}, 片岡陽一^{**}, 池竹英人, 松原 浩^{*}

(1994 年 6 月 21 日受理)

微小水銀プール電極を用いる流れ分析用ポーラログラフィック検出器の開発と評価を行った。この検出器は、つり下げ水銀電極から移送された交換容易な微小水銀作用極、白金対極及び銀参照極からなっている。4 種類 6 組の検出器を試作した。微小水銀電極は白金線コンタクトを水銀めっきすることで流れの中で安定化できた。セル体積 $3\ \mu\text{l}$ の検出器で、ヘキサシアノ鉄(III)酸カリウム $5 \times 10^{-6} \sim 1 \times 10^{-3}\ \text{M}$ ($\text{M} \equiv \text{mol dm}^{-3}$) で検量線が直線となり、再現性は 1.5% と良好であった。試作したセルはリン酸イオン及び農薬に用いられるチオ尿素化合物の分析で良好な応答を示し、各々 pmol レベルの検出が可能であった。本研究で開発した検出器は、取り扱い、作製が容易な割に高感度であり、複雑な試料からの汚染の影響を受けにくい。従って環境試料等の多検体迅速分析、連続モニタリングに広く適用できると考えられる。

1 緒 言

近年、環境汚染が空間的、時間的に大きな広がりをもせ、又新たに規制される物質も年々増加の一途をたどっている。このような状況の中、多検体試料の迅速分析、目的成分の連続モニタリングは非常に重要となってきた。流れ分析はこれらを満足する非常に適した方法である¹⁾。

この流れ分析用の検出器には、紫外吸光検出器、蛍光検出器及び電気化学検出器等の種類があり、その中の電気化学検出器は、高い選択性と感度を持つ割に単純な構造で安価といった特徴を有している。このことから近年盛んに研究が行われており、特に白金、金及びグラッシカーボン等の材料を用いた固体電極が多く用いられている。しかし、これらの電極は水銀に比べ測定に使える電位窓が正電位領域であり、活性表面を実用的な期間保つためになんらかの電極表面活性化法を取らざるをえない。又、一方で、多くの無機イオン及び有機化合物はポーラログラフィーにより広く研究されているため分析対象も多い。このようなことから流れ分析のフローシス

テムに水銀電極を組み込む試みもなされている。これらは、ポーラログラフィック検出器と呼ばれ²⁾、滴下水銀電極(DME)及びつり下げ水銀電極(HMDE)をそのまま用いるもの³⁾⁴⁾、金属に水銀を被覆した水銀被覆電極を用いるもの⁵⁾等が報告されている。電極表面の連続的な更新には DME や HMDE を組み込むポーラログラフィック検出器が有利であるが、これらの検出器ではセル構造、取り扱いが複雑となり、セル体積を小さくすることが困難であるといった難点が見られ⁶⁾、単純な構造で高感度といった電気化学検出器の長所を生かしにくかった。

そこで本研究では、DME を組み込んだ場合の電極の更新性及び固体電極を組み込んだ場合の単純なセル構造といった両者の長所を兼ね備えた検出器を作製した。すなわち、交換の容易な微小水銀プール電極を使用したポーラログラフィック検出器を試作し、ヘキサシアノ鉄(II, III)系でセル性能を評価した。その結果、良好なセル応答が得られた。更に富栄養化原因物質のリン酸イオン、殺虫剤等の農薬に使用されるチオ尿素化合物に適用したところ、有効な結果が得られたので報告する。

* 長岡技術科学大学工学部: 940-21 新潟県長岡市上岡町 1603-1

** 北越製紙(株): 950 新潟県新潟市榎町 57

2 実 験

2・1 流れ分析用ポーラログラフィック検出器

本実験では、容易に作製できる単純でセル体積の小さな検出器を念頭に置き、HMDEの水銀滴をいったんテフロン細管で移送し、これをフローセルの作用電極部に静置する方式（水銀プール電極）を試みた。このような方式にすると、水銀プールの量はHMDE側で制御することができ、単純な構造と小さなセル体積を持つ検出器の作製が容易になった。作用電極部分は、電極線とのコンタクト及び水銀プールの充てん、廃棄の容易さがポイントとなる。電極系は三電極系を採用した。作用極には水銀を、対極には白金線（0.3 mmφ×5 mm）を、参照極には銀線（0.3 mmφ×5 mm）を用いた。この程度の大きさで十分それぞれの電極として機能した。水銀プールと作用電極線とのコンタクトには白金線（0.5 mmφ）の端面に水銀めっきしたものを用いた。水銀プールの検出器への注入は、ライン上のインジェクターと検出器の間に設けた水銀注入用のバイパス流路に切り替え、上流側からテフロン管（内径 1 mm）内を移送し行った。又、水銀プールの取り出しは、セルを回転し水銀を落下させ、流路の下流側からキャリヤー液と共に排出して行った。この方式が、再現性がよく取り扱いも簡単であった。種々の予備実験の結果、4 種類 6 組の検出器を作製した。これらのセル構造の模式図を Fig. 1 に示した。

(a) では、下のアクリル板に水銀電極のための微小な穴が刻まれ、そこに流入側のチューブと白金線コンタクトが挿入されている。上のシリコンゴム栓の小空間に排出側のチューブと対極及び参照電極が埋め込まれている。ここではセル体積 4 μl のものを作製した。

(b) では上のアクリル板に溶液の流入口があり、下のアクリル板には対極と参照電極が置かれた排出口と、白金線コンタクト及び水銀電極のための小空間が設けられている。流入口と排出口の間には V 字型の溝（幅 0.7 mm、深さ 1 mm）が切られている。スペーサーの厚さは 0.1 mm で、セル体積は 12 μl である。

(c) ではテフロンチューブをシリコンゴム板（厚さ 3 mm）の中を通し、中央のセル室の穴（直径 2.5 mm）まで挿入している。セル室の天井となるアクリル板には、対極及び参照電極が埋め込まれている。セル体積は中央のシリコンゴム板の厚さで変化する。ここではセル体積 15 μl 及び 4.1 μl のものを作製した。

(d) ではアクリル板の上の 2 本のテフロンチューブをシリコンゴム板で挟み込んで小空間を作り、小空間の

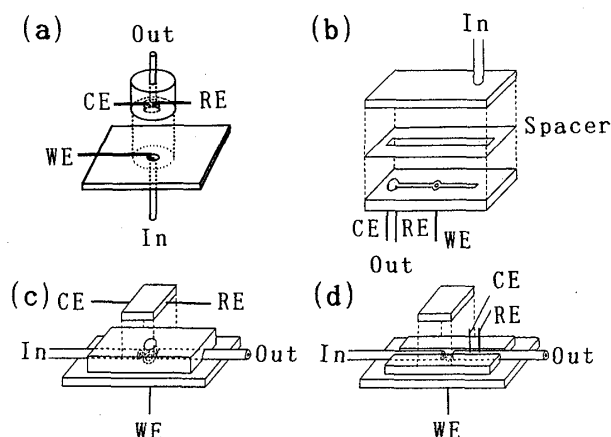


Fig. 1 Schematic diagram of the polarographic detector

WE: working electrode (small mercury pool electrode); CE: counter electrode (0.3 mmφ platinum wire); RE: reference electrode (0.3 mmφ silver wire); In: inlet tube; Out: outlet tube

底には白金線コンタクトが設けられている。排出側のチューブには対極及び参照電極が挿入されており、小空間の天井をシリコンゴム板でふたをしている。セル体積は、2 本のテフロンチューブの間隔により変化する。ここではセル体積 3.4 μl 及び 2.6 μl のものを作製した。

2・2 流れ系装置

フロー系はポンプ（日本分光製，880-PU 型），インジェクター（レオダイン製，7125 型），ボルタンメトリックアナライザー（扶桑製作所製，312 型），記録計（セコニック製，SS-250F），及び今回作製したポーラログラフィック検出器から構成されている。Fig. 1(a) の検出器をつないだときには 50 μl のサンプルループを使用した。又、この検出器でリン酸イオンの定量を行ったときは、ステンレス製反応コイル（内径 0.5 mm，全長 50 cm）をインジェクターと検出器の間に挿入した。Fig. 1(b)～(d) の検出器をつないだときは 10 μl のサンプルループを用い、ステンレスコイル（内径 0.1 mm，全長 2 m）をポンプとインジェクターの間に挿入しダンパーとして用いた。

2・3 試薬及び操作手順

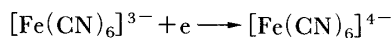
用いた試薬の $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ ， KCl ， KH_2PO_4 ， $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ， H_2SO_4 ， KNO_3 ， HNO_3 ，メタノール，チオ尿素，アリルチオ尿素，ジフェニルチオ尿素，エチレンチオ尿素，メチルチオセミカルバジド，フェニルチオ尿素はすべて特級品を用いた。電極の特性を

調べるため, テストサンプルとして $K_3[Fe(CN)_6]$ を用い, この場合のキャリアー溶液は 0.1 M KCl を用いた. リン酸イオンは KH_2PO_4 を用いて標準溶液を調整し, キャリヤー溶液には種々の検討の結果, 0.09/7 M $(NH_4)_6Mo_7O_{24} + 0.1$ M H_2SO_4 を用いた. チオ尿素化合物では各々の試薬について標準溶液を調整し, キャリヤー溶液には 0.1 M $KNO_3 + 0.02$ M HNO_3 のメタノール (1 v/v%) 水溶液を用いた. 流れ分析は, まずキャリアーをポンプで送液し, ポテンシostat を用いて参照電極に対し規制された電位を作用電極に印加した. 続いて, インジェクターから所定のサンプルを注入し, レコーダー上にピーク電流を記録して行った. 又, 必要により酸素の影響を除くために, あらかじめ窒素ガスをキャリアータンクに通気して除酸素を行い, これをラインに送液した. 又, 水銀滴交換の頻度は注入する試料により異なるが, 本研究で用いた試料の場合 30 回程度の注入でも特に電極の劣化が見られなかったため, 数十回の注入の後, 水銀滴の交換を行った.

3 結果と考察

3・1 流れ分析用ポーラログラフィック検出器

水銀作用電極を用いた流れ分析用ポーラログラフィック検出器のセルデザインにおいて, 微小水銀電極を流れの中に静置したときの安定性, 溶液と電極との良好な接触及びセル体積等は重要なファクターと考えられる. ここでは試作した 4 種類 6 組のポーラログラフィック検出器を用いて, その特性について考察した. 1 分間に 1 ml の流量でキャリアー溶液を流し, この系に $K_3[Fe(CN)_6]$ のテスト溶液を注入し, 応答曲線を測定した. 電極電位は反応



の限界電流を与える電位 (+0.02 V vs. SCE) に決定した. 一連の実験では 10 回ずつの試料溶液の注入を行った.

3・1・1 微小水銀電極の流れの中での安定性 水銀プールの安定性が, 白金線コンタクトの太さや水銀めっきの有無により変化し, 応答曲線の再現性に影響を及ぼすことが考えられるので, Fig. 1(b) のセルを用いてこの影響について検討した. 結果を Table 1 に示す. 白金線に水銀めっきをしない場合には, ピーク高さに大きなばらつきが見られたが, 水銀めっきをすることによってこのばらつきが少なくなった. これは水銀めっきすることによって, 流れによる水銀電極の揺れが減少し, 安定したためと考えられる. 又, 直径 0.3 mm の白金線を

Table 1 Effect of diameter of platinum wire on mercury drop contact

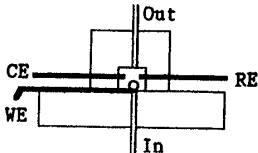
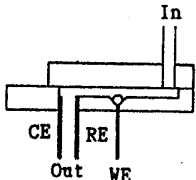
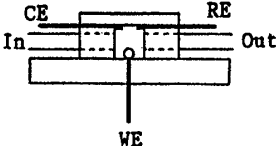
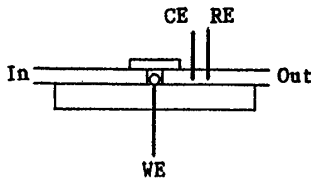
Diameter of platinum wire/mm	RSD ($n=10$) of peak current, %
Without mercury coating	
0.3	18.0
With mercury coating	
0.3	5.2
0.5	2.6
1.0	2.0

使用した場合に 0.5 mm と 1.0 mm のものに比べてややばらつきが大きいが, これは接触部分が小さいため, 水銀電極が不安定になっているものと考えられる. そして直径 0.5 mm と 1.0 mm の白金線は, とともに相対標準偏差が 3% 以内と再現性が良好であった. しかし 1.0 mm の白金線は取り付けた電極 (水銀滴) を再現性良く取り除くことが困難であった. 本研究で使用した水銀電極の直径は 0.84 mm であるが, この水銀滴に対して直径 0.5 mm の白金線が水銀電極の安定性, 水銀電極の除去という点において最適であるため, 作製したすべての検出器において 0.5 mm の白金線を用いることにした.

3・1・2 セル体積の効果 同じセル構造でセル体積の異なるセルについて, セル体積とピーク電流値との関係を調べた. Fig. 1(c) と (d) のセルについての結果はセル (c) ではセル体積 15 μ l の場合に 1.3 μ A, セル体積 4.1 μ l の場合に 4.8 μ A とセル体積が小さいほうがピーク電流値が大きかった. 又, セル (d) についても同様となった. これより類似のセル構造ならばセル体積の小さいほうが, ピーク電流値が大きくなっている. セル体積の減少は試料とキャリアーとの混合による希釈を抑え, その結果検出感度を高めているものと思われる.

3・1・3 フローパターンの効果 溶液と電極との良好な接触を引き起こすフローパターンは, 検出感度を高めるものと考えられる. Fig. 1(c) のセル (セル体積 15 μ l) は, (b) のセル (セル体積 12 μ l) とセル体積の差がわずかであるが, 検出感度は 1/3 以下となっている. そこで (b) のセルでキャリアーの流入口の位置を変えてフローパターンの変化がピーク電流に及ぼす影響を見た. 流入口が作用極からわずかでも離れるとピーク電流が大きく減少し, 5 mm 以上離れるとそれ以上大きな変化はなかった. 従って作用極と流入口の相対的位置が非常に重要であると考えられる. 流入口の穴の位置を作用極に近づけると, より大きな対流のため電極への物質移動が増大し, 検出感度が高くなるものと思われる. 本研究での 4 種類 6 組のセルについての検出感度等の評価

Table 2 Characteristics of the polarographic detector

Cell	Structure	Explanation	Parameter
(a)		The two electrodes CE and RE are inserted into the upper silicone rubber stopper. The inlet tube is inserted into the lower acrylic plate. The mercury electrode is placed in the flow stream from bottom to top.	Sensitivity [†] : 9.1 $\mu\text{A}/\text{mM}$ RSD: 2.3% Cell volume: 4 μl
(b)		The lower acrylic plate serves as the channel. Only the cell volume of the channel is large while the volume near the mercury electrode is small. The position of the inlet changes according to the position of the upper plate.	Sensitivity ^{††} : 4.4 $\mu\text{A}/\text{mM}$ RSD: 1.3% Cell volume: 12 μl
(c)		The Teflon tube passes through the silicone rubber plate. Cell volume is constant as inlet and outlet are fixed. The cell volume near the mercury electrode depends on the thickness of the rubber plate.	Sensitivity ^{††} : 1.3 $\mu\text{A}/\text{mM}$ RSD: 1.4% Cell volume: 15 μl
(d)		The two electrode CE and RE are inserted into the outlet tube. The cell volume is fixed and does not depend on the position of the three electrodes. The cell volume is minimized.	Sensitivity ^{††} : 4.8 $\mu\text{A}/\text{mM}$ RSD: 1.7% Cell volume: 4.1 μl
			Sensitivity ^{††} : 6.5 $\mu\text{A}/\text{mM}$ RSD: 1.6% Cell volume: 3.4 μl
			Sensitivity ^{††} : 8.1 $\mu\text{A}/\text{mM}$ RSD: 1.5% Cell volume: 2.6 μl

† Injection volume: 50 μl ; †† Injection volume: 10 μl . WE: working electrode; CE: counter electrode; RE: reference electrode; In: inlet tube; Out: outlet tube

結果をセル構造とともに Table 2 に示す。検出感度は $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ の 1 mM 当たりの電流の大きさとして表した。Fig. 1(a) の検出器の高い感度は注入量が多いためである。注入量の少ない 10 μl 注入時に、Fig. 1(d) の検出器がほぼ同じセル体積の他の検出器と比べ高い感度を示すことから、良好なフローパターンが得られていると考えられる。

3・2 分析データ

3・2・1 リン酸イオンの定量 Fig. 1(a) のセルを用いて、モリブデン酸キャリアーとの反応で生成したリンモリブデン酸の還元電流を測定した⁷⁾。この還元反応において、キャリアー溶液の組成は 0.09/7 M モリブデン酸アンモニウム+0.1 M H_2SO_4 が最適条件であった。又、反応を促進するための反応コイルは全長 50 cm (内径 0.5 mm) が最適であった。印加電位 (0.2 V vs. SCE) で測定した検量線を Fig. 2 に示す。200 μM 濃度まで検量線は直線となった。又、相対標準偏差は 120

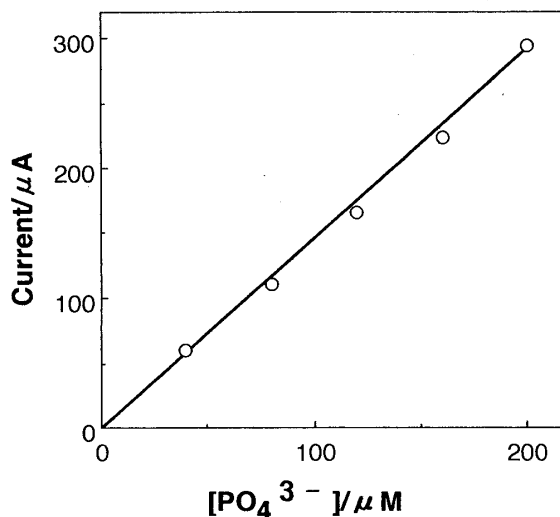
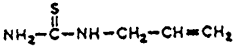
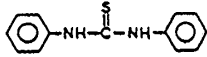
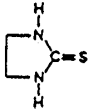
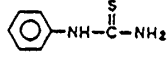
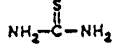


Fig. 2 Calibration curve for phosphate ion

μM の濃度において 2.8% ($n=10$) で良好な再現性を示した。

Table 3 Detector performance for different thiourea compounds

Compound	Structure	Linear range/M	Slope/ nA ng ⁻¹	Detection limit/ ng, ml	RSD [†] (n=10)
Allylthiourea (M=116.19)		$5 \times 10^{-6} \sim 5 \times 10^{-3}$	3.03	3.5 3×10^{-11}	1.9%
Diphenylthiourea (M=228.31)		$1 \times 10^{-6} \sim 5 \times 10^{-4}$	2.19	2.3 1×10^{-11}	1.7%
Ethylenethiourea (M=102.16)		$5 \times 10^{-7} \sim 1 \times 10^{-3}$	9.68	0.51 5×10^{-12}	0.93%
Methylthiosemicarbazide (M=105.16)		$5 \times 10^{-6} \sim 1 \times 10^{-2}$	3.74	4.2 4×10^{-11}	1.3%
Phenylthiourea (M=152.22)		$1 \times 10^{-6} \sim 5 \times 10^{-3}$	2.28	1.2 8×10^{-12}	0.74%
Thiourea (M=76.12)		$5 \times 10^{-7} \sim 1 \times 10^{-3}$	16.6	0.30 4×10^{-12}	1.7%

† At 1×10^{-5} M

3・2・2 チオ尿素化合物の定量 Fig. 1 (d) の 2.6 μ l セル体積のものを用い, 印加電位 (0.34 V vs. SCE) で, 6 種類のチオ尿素化合物の測定を行った⁸⁾. 各検量線から得られた直線濃度範囲, こう配, 検出限界を化合物の構造とともに Table 3 に示す. なお再現性は 1×10^{-5} M の濃度のサンプルを 10 回注入したときの相対標準偏差で示した. これより, 6 種類の化合物ともほぼ 3 けたの濃度範囲において濃度と電流値に直線関係が見られ, pmol レベルの定量が可能であった.

試作した 4 種類のセルの中で, (d) 型のセルがセル体積も小さくフローパターンも良好で, また水銀の出し入れも容易であったことから, 自動化に適していると考えられる. このセルを用いて得られた検量線は $K_3[Fe(CN)_6]$ 濃度にして 5×10^{-6} M $\sim 1 \times 10^{-3}$ M の範囲で直線であった. 又, 移送前と移送後の濃度の比である分散係数⁹⁾は $D=1.36$ が得られ, 小分散であることを示した. 試料処理速度は, 1 検体当たり 20 秒程度で, 最高 1 時間に約 180 検体の処理が可能と思われる. 更に検出限界を算出すると約 3×10^{-6} M となり, 注入量が 10 μ l なので 30 pmol が検出できることになる. 試作

したセルはリン酸イオン, チオ尿素化合物の定量でも pmol レベルの検出が可能であったため, ポーラログラフ法により酸化還元を受ける環境試料等の迅速分析に広く利用可能と思われる.

文 献

- 1) 伊永 隆: “図説フローインジェクション分析法”, 高島良正, 与座範正編, p. 200 (1989), (廣川書店).
- 2) 今井一洋, 沢田嗣郎, 渡辺訓行, 渡辺秀夫: “超高度液体クロマトグラフィー”, p. 93 (1985), (学会出版センター).
- 3) H. B. Hanekamp, P. Bos, U. A. Th. Brinkman, R. W. Frei: *Fresenius' Z. Anal. Chem.*, **297**, 404 (1979).
- 4) J. B. F. Lloyd: *Anal. Chim. Acta*, **154**, 121 (1983).
- 5) T. Wasa, S. Musha: *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **48**, 2176 (1975).
- 6) W. W. Kubiak: *Electroanalysis*, **1**, 379 (1989).
- 7) A. G. Fogg, N. K. Bsebsu: *Analyst* (London), **107**, 566 (1982).
- 8) H. B. Hanekamp, P. Bos, R. W. Frei: *J. Chromatogr.*, **186**, 489 (1979).
- 9) 上野景平, 喜納兼勇: “フローインジェクション分析法入門”, p. 22 (1983), (講談社).



Evaluation of a polarographic flow detector for environmental monitoring.

Akifumi YAMADA, Kazunori HODOUCHI*, Youichi KATAOKA**, Hideto IKETAKE and Hiroshi MATSUBARA* (*Department of Chemistry, Faculty of Engineering, Nagaoka University of Technology, 1603-1, Kamitomioka-machi, Nagaoka-shi, Niigata 940-21; **Hokuetsuseishi Co.Ltd., 57, Enoki-machi, Niigata-shi, Niigata 950)

A polarographic detector for flow injection analysis has been devised using a small mercury pool transferred from a hanging mercury drop electrode through a Teflon tube. Its simplicity in handling and lower dead volume cell is advantageous. The detector consists of a working electrode (small mercury pool), a counter electrode (platinum wire) and a reference electrode (silver wire). The mercury pool placed in the cell was stabilized by mercury plating onto the platinum wire for contact. A small cell volume made the detector sensitive. The efficiency of the detector was also enhanced by directing the eluent stream for the mercury drop. A linear relation was observed for hexacyanoferrate(III) ion in the range of $5 \times 10^{-6} \sim 1 \times 10^{-3}$ M ($M \equiv \text{mol dm}^{-3}$) with a relative standard deviation of less than *ca.* 1.5%. Detectors were also applied to the determination of phosphate ion and six thiourea compounds. The detector limit for these samples was on the pmol level. Handling of the detector was simple and mechanical skill was not necessary.

(Received June 21, 1994)

Keyword phrases

polarographic detector; environmental monitoring; FIA; phosphate ion; thiourea compounds.
