

流れ分析用ポーラログラフィック検出器

山田 明文*・片岡 陽一*・小野 芳敬*
程内 和範*・加藤 良清**

A Polarographic Detector for Flow Injection Analysis

Akifumi YAMADA, Youichi KATAOKA, Yoshitaka ONO,
Kazunori HODOUCHI, Yoshikiyo KATO

A polarographic detector for flow injection analysis has been devised using a small mercury pool from a hanging mercury electrode. The detector consists of a working electrode (mercury pool), a counter electrode (platinum wire) and a reference electrode (silver wire). Linear relation was observed in hexacyanoferrate (III) at a range of $5 \times 10^{-6} \sim 1 \times 10^{-3} \text{M}$ with a relative standard deviation of less than ca. 1.5% at a cell volume of $3 \mu\text{l}$.

Key words : flow injection analysis / polarographic detector / mercury pool electrode

1. はじめに

1975年にRuzickaが流れ分析の手法を発表¹⁾して以来、この方法は管理分析の分野で注目を集めてきた。この方法は細管中を流れるキャリアー液の中に試料を注入し、下流に設けた検出器で目的成分を検出する分析法である。従って、分析試料が少量で済み、また流れを用いることから、単位時間当たりの分析効率が高いという特長がある。

流れ分析用の検出器には、紫外吸収検出器、蛍光検出器、電気化学検出器などの種類があり、その中の電気化学検出器は、選択性が良く高感度の測定が可能なことから、近年盛んに研究が行われている。この電気化学検出器には、白金、金、グラッシーカーボンなどの材料を用いた固体電極が多く用いられている。しかし、これらの電極では、測定に使える電位窓が正電位領域に片寄っている。現在のところ負電位側に広い電位窓を持つ材料は、大きな水素過電圧を有する水銀に限られている。

負電位領域に酸化還元電位を有する分析対象も多い

ため、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ており²⁾、滴下水銀電極をそのまま用いるもの^{3,4)}、吊り下げ水銀滴電極を用いるもの⁵⁾、金属に水銀を被覆した水銀被覆電極を用いるもの⁶⁾などが報告されている。しかし、これらの検出器ではセルの取り扱いが複雑で、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みられる⁷⁾。

フローシステムにおいてセル体積を小さくすると、分析試料が微量で済み、同時に分析感度の向上が期待できる。そこで、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)系で検討したところ、極めて良好な結果が得られたので報告する。

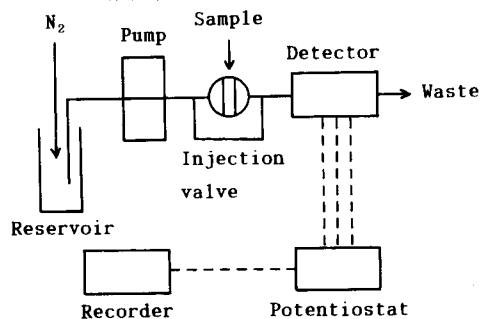


Fig. 1 Diagram of flow system.

原稿受付：平成5年5月31日

*長岡技術科学大学化学系

**山形大学教養部化学科

2. 実験

2.1 フロー系および装置

実験に使用したフロー系の模式図を図1に示す。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)および本実験のポーラログラフィック検出器から構成されている。サンプルの注入には, $10\ \mu\text{l}$ のサンプルループを使用し, キャリヤーには, $0.1\ \text{M}$ ($\text{M}=\text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$) KCl 溶液を用いた。試験用の標準物質には, ヘキサシアノ鉄(III)酸カリウムを用いた。

2.2 ポーラログラフィック検出器

従来の報告では, 作用極に滴下水銀電極や吊り下げ水銀電極を, 直接フロー系の電極部分に組み込むことが行われていた。このような場合には, 電極構成が複雑となり, セル体積を小さくすることが困難であった。そこで本実験では, 吊り下げ水銀電極の水銀滴をいったんテフロン細管(内径 $1\ \text{mm}$) で移送し, これをフローセルの作用電極部分に静置する方式(水銀プール電極)を試みた。このような方式にすると, 水銀プールの量は吊り下げ水銀電極側で制御ことができ, 作用電極部分は電極線とのコンタクトおよび水銀プールの充填, 廃棄の容易さがポイントとなる。電極系としては作用極, 対極, 参照極を具備した3電極系を採用した。作用極には水銀を, 対極には $0.3\ \text{mm}\phi \times 5\ \text{mm}$ の白金線を, 参照極には $0.3\ \text{mm}\phi \times 5\ \text{mm}$

の銀線を用いた。予備実験の結果から, この程度の大きさで, 十分それぞれの電極として機能することを確認した。水銀プールと作用電極線とのコンタクトは, $0.5\ \text{mm}\phi$ の白金線の端面に水銀メッキしたものをを用いた。水銀プールは内径 $1\ \text{mm}$ のテフロン管で移送し, 取り出しはセルを回転し落下させる方式が, 再現性がよく取り扱いも簡便であった。

3電極の取り付け方, 構造等について種々の予備実験をした結果, 最終的に3種類の検出器を試作した。これらのセル構造の模式図を図2に示す。

図2(a)は, 2枚の亚克力板の間に溝を切ったスペーサーを入れ, セルを構成している。上側の亚克力板には溶液の流入口が, 下側の亚克力板には対極と参照極が置かれた排出口と, 作用電極のためのコンタクトおよび水銀プール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巾 $0.7\ \text{mm}$, 深さ $1\ \text{mm}$ のV字型の溝が切られている。スペーサーの厚さは $0.1\ \text{mm}$ で, セル体積は $12\ \mu\text{l}$ である。

図2(b)では, テフロンチューブ(外径 $1.6\ \text{mm}$, 内径 $0.5\ \text{mm}$) をシリコンゴム板(厚さ $3\ \text{mm}$) の中通し, 中央のセル室の穴(直径 $2.5\ \text{mm}$) まで挿入している。下側の亚克力板には作用極のためのコンタクトが設けられている。上側の亚克力板には, 対極および参照極が埋め込まれている。このセル構造では, 中央のシリコンゴム板の厚さでセル体積が変化する。ここでは, セル体積 $15\ \mu\text{l}$ および $4.1\ \mu\text{l}$ のものを試作した。

図2(c)では, アクリル板の上にテフロンチューブが置かれ, その両側にシリコンゴム板で壁を作り, 作用極のためのコンタクト部を囲むような構造となっている。そして, 溶液の排出口のチューブには対極および参照極が挿入されており, 上側のシリコンゴム板でふ

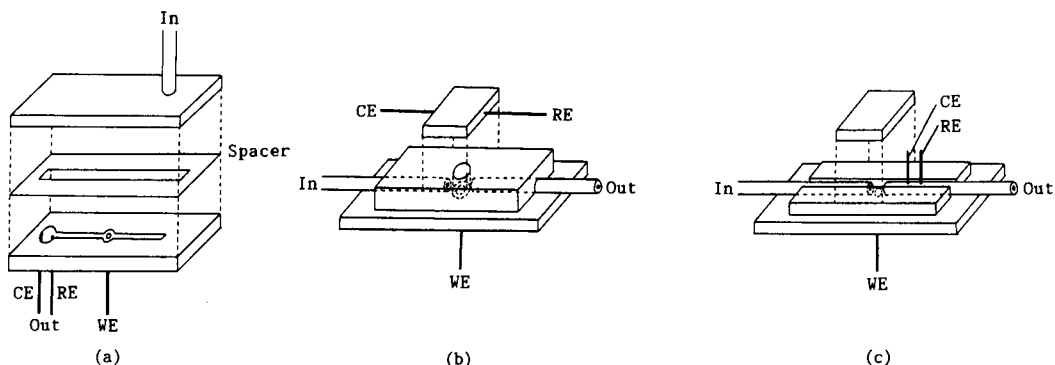


Fig. 2 Schematic diagram of the polarographic detectors.

WE : Working electrode (Small mercury pool electrode)

CE : Counter electrode ($\phi 0.3\ \text{mm}$ Platinum wire)

RE : Reference electrode ($\phi 0.3\ \text{mm}$ Silver wire)

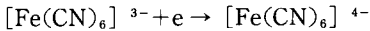
たをしてセル室を形成するようになっている。この構造におけるセル体積は、2本のテフロンチューブの間隔を調整することによって変化する。ここでは、セル体積 3.4 μl および 2.6 μl のものを試作した。

3. 結果および考察

3種類のポーログラフィック検出器について、図2(a)を1組(セル体積 12 μl)、図2(b)を2組(セル体積 15 μl , 4.1 μl)、図2(c)を2組(セル体積 3.4 μl , 2.6 μl)の計5組を試作し、その特性を評価した。

毎分 1 ml の割合で KCl 溶液をキャリアとして流し、この系に 1 mM $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ 溶液を 10 μl 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 -0.15 V vs. Ag (+0.02 V vs. SCE) に設定した。一連の実験では、10 回づつの注入を行ったが、いずれも再現性の良い応答曲線が得られた。図2(c)のセルについて、応答曲線の一列を図3に示す。全てのセルについて、相対標準偏差 2% 以内の良好な応答曲線が得られた。

ここで、水銀プールとコンタクトする白金線の太さが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、この効果を調べた。この結果を表1に示す。

水銀プールとのコンタクトの白金線に水銀メッキをしない場合に、キャリアの流出速度によっては、ピーク高さにバラツキが見られた。しかし、水銀メッキすることによって、このバラツキが少なくなった。これは水銀メッキすることによって、流れによる水銀プールのゆれが無くなり、安定したためと考えられる。また、直径 0.3 mm の白金線を使用した場合に、0.5 と 1.0 mm のものに比べてややバラツキが大きい、こ

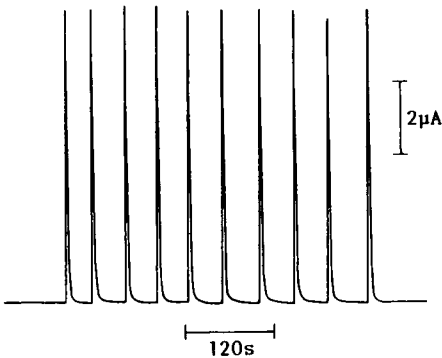


Fig. 3 Typical recorder traces for 10 μl injection of 1 mM $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ obtained at flow rate of 1 ml/min.

Table 1 Effect of a diameter of platinum wire with the contact of a mercury drop.

Diameter of platinum wire	Relative standard deviation (n = 10)
Without mercury coating	
0.3mm	18%
With mercury coating	
0.3 mm	5.2%
0.5 mm	2.6%
1.0 mm	2.0%

れは、水銀滴の直径 (0.84 mm) に比べて接触部分が小さいため、水銀滴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、ともに相対標準偏差が 3% 以内と再現性が良好である。しかし、1.0 mm の白金線は、取りつけた水銀滴を全て取り除くことが困難なため、以後の測定は、0.5 mm の白金線を用いた。

5組のセルについての評価結果をセル構造とともに表2に示す。検出感度は、 $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ の 1 mM あたりの電流の大きさとして表した。相対標準偏差は 10 回の注入に対する値である。

(a)型のセルでは、キャリアの流入口の位置によって感度は変化したが、作用極から 5 mm 以上離れたとあまり大きな変化はなかった。また、溶液の流れが水銀プール電極の真上からあたる場合には、流速によって感度が大きく変化した。図4に流速とピーク電流の関係を示す。溶液の流れが水銀プールの真上からあたる場合には、ピーク電流は流速とともに著しく増加する。これに対し、溶液の流れが横からあたる場合には、ピーク電流はほとんど変化しない。また、上下

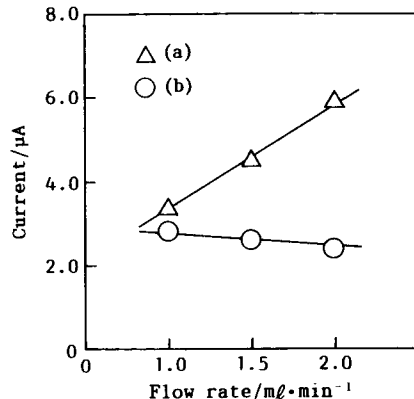
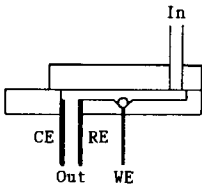
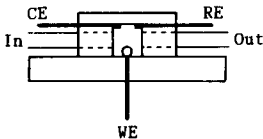
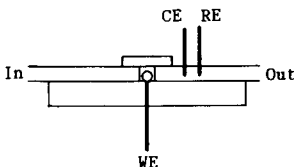


Fig. 4 Relation between the peak current and the flow rate. Flow of the carrier comes (a) directly overhead and (b) sideways.

Table 2 Characteristics of the polarographic detector.

Cell	Structure	Explanation	Parameter
(a)		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 : $4.4\mu\text{A}/\text{mM}$ Rel. std. dev. : 1.3% Cell volume : $12\mu\ell$
(b)		The teflon tube passes through the silicon 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 : $1.3\mu\text{A}/\text{mM}$ Rel. std. dev. : 1.4% Cell volume : $15\mu\ell$ ----- Sensitivity : $4.8\mu\text{A}/\text{mM}$ Rel. std. dev. : 1.7% Cell volume : $4.1\mu\ell$
(c)		The two electrode CE and RE are inserted in 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 : $6.5\mu\text{A}/\text{mM}$ Rel. std. dev. : 1.6% Cell volume : $3.4\mu\ell$ ----- Sensitivity : $8.1\mu\text{A}/\text{mM}$ Rel. std. dev. : 1.5% Cell volume : $2.6\mu\ell$

WE. : Working electrode CE. : Counter electrode RE. : Reference electrode
In : Inlet tube Out : Outlet tube

の亚克力板の間には、スペーサーをつけてセル体積を調整したが、スペーサーが厚い場合にはセル体積が増え、ピーク電流は大きく減少した。

(b)型のセルでは、テフロンチューブが通っているシリコンゴム板の厚さがセル体積を決める要因となっている。セル体積が減少すると注入試料の希釈率が小さくなるため、検出感度は上昇した。また、ここでは対極と参照極が上の亚克力板に埋め込まれているが、作用極との位置関係により、多少検出感度が変化した。

(c)型のセルでは、対極と参照極は流出側のテフロンチューブに挿入されており、水銀の出し入れに際して影響を受けない。この構造でのセル体積は、流入側と流出側のチューブの間隔によって規定される。3種類のセルの中では、この型のセルがセル体積も小さく、流速の影響も受けにくく、また水銀の出し入れも容易なことから、自動化に向いていると考えられる。

このセルを用いて得られた検量線の一例を、図5に示す。 $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ の濃度にして $5 \times 10^{-6} \sim 1 \times 10^{-3}$ Mの範囲で直線の検量線が得られた。また、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、小分散であることが分かった。試料処理速度は、1検体あたり20秒程度の速度で注入が可能だったため、最高1時間に約180検体の処理が可能と思われる。さらに、検出限界を算出すると約 3×10^{-6} Mとなり、注入量が $10\mu\ell$ なので、 30 pmol が検出できることになる。

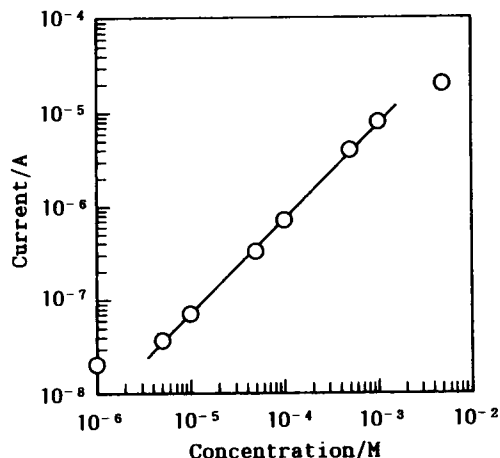


Fig. 5 Calibration curve for $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ obtained with the cell (c).

博士に深く謝意を表します。

4. 結 論

負電位領域で流れ分析に利用できるポーログラフィック検出器を試作した。作製した検出器の基礎特性をまとめると次のようになる。

- 再現性 相対標準偏差 (n=10) が 1.5%
- 濃度比例性 $5 \times 10^{-6} \sim 1 \times 10^{-3} \text{M}$ の範囲で直線関係
- 分散係数 $D=1.36$ (小分散)
- 試料処理速度 1時間に約 180 検体の処理が可能
- 検出限界 約 $3 \times 10^{-6} \text{M}$ (30 pmol)

ここで開発した検出器は、構造が単純で取り扱いも簡便なことから、自動化が可能であり、実用的な流れ分析用検出器として十分役立つものと考えられる。

最後に、本研究を進めるにあたり、有益なご助言を頂きました長岡技術科学大学吉國忠亜助教授、松原浩

参考文献

- 1) J. Ruzicka and E.H. Hansen, *Anal. Chim. Acta*, **78**, 145 (1975).
- 2) 今井一洋, 沢田嗣郎, 渡辺訓行, 渡辺秀夫, 超高感度液体クロマトグラフィー, 第3章, 学会出版センター, (1985).
- 3) H.B. Hanekamp, W.H. Voogt, P.Bos and R.W. Frei, *Anal. Lett.*, **12**, 175 (1979).
- 4) H.B. Hanekamp, P.Bos, U.A.Th. Brinkman, and R.W. Frei, *Z.Anal. Chem.*, **297**, 404 (1979).
- 5) J.B.F. Lloyd, *Anal. Chim. Acta*, **154**, 121 (1983).
- 6) T.Wasa and S.Musha, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **48**, 2176 (1975).
- 7) W.W. Kubiak, *Electroanalysis*, **1**, 379 (1989).
- 8) 黒田六郎, 小館幸一, 中村洋, フローインジェクション分析法, 第2章, 共立出版, (1990).