

合金電極と糖の検出

Alloy Electrodes and Detection of Saccharides

中瀬智穂 Chiho NAKASE

(お茶の水女子大学ライフサイエンス)

[目的]

蛋白質化学や遺伝子工学の進展に伴い、アミノ酸や核酸の分析技術が飛躍的に精度を増しているが、糖の分析はこれまで余り行われなかった。これはアミノ酸や核酸とは違い、糖は電子を持たないため可視光をほとんど吸収せず、吸光度や屈折率を用いた分析が難しいためである。ところが近年免疫学において細胞膜表面の糖の重要性が注目されるに及び、その分析法の確立が急がれるようになった。幸い液体クロマトグラフィーにより各種糖類の分離精度は増したが、糖検出候補としての肝腎の電気化学分析による検出法は現在のところまだそのメカニズムが不明であり、安定性や再現性などの問題点が残っている。近年、炭水化物に関する電気化学検出において、NiTi合金電極が高感度かつ長期安定性・再現性に優れているという報告があった¹⁾。本研究では高速液体クロマトグラフィー (HPLC) による糖分析におけるすぐれた検出電極の開発を目的として、各種組成の Ni_xTi_{1-x} 合金を検討した。

[実験]

1. Ni_xTi_{1-x} 合金

Ni_xTi_{1-x} 合金の組成 x は3つの金属間化合物 ($NiTi_2$, $NiTi$, Ni_3Ti) および3つの共晶 (組成 $x = 0.245, 0.6, 0.8$) を主に選択して用いた。合金はNi pellet (純度 99.97%) とTi rod (純度 99.9%) を秤取し、Ar ark 炉 ($p = 400$ Torr) で組成が均一になるように熔融・冷却・裏返を4回繰り返して作製した。

2. 電気化学三極セル

電解質水溶液 (NaOH: 濃度 0.1 M, 温度 $T = 25$ °C) に浸漬した Ni_xTi_{1-x} 合金を作用極Wとし、飽和甘汞電極 (SCE = $Hg/Hg_2Cl_2/KCl$) を参照極R, Pt 線 ($S = 39$ mm²) を対極Cとして電気化学三極セル (円筒半径 $r = 13$ mm, $h = 30$ mm) を構成した。Rに対するWの電位 E を線型掃引 (掃引速度 v) して、作用極電流 I を測定した。ついでこのNaOH溶液に糖を溶解し、その作用極電流の変化を測定した。

3. 流動電解セル

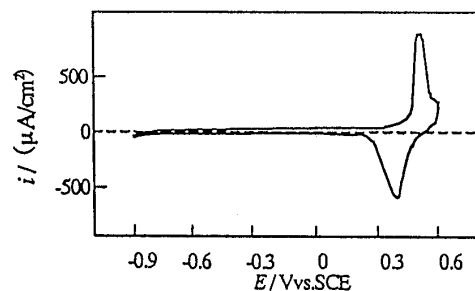
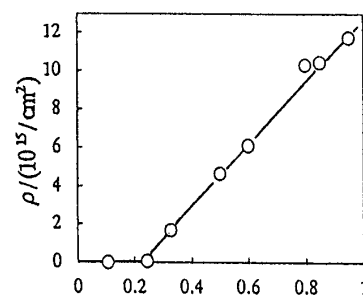
高速液体クロマトグラフィー (Column-9 (N,N-dimethyl hexyl ammonium methyl styrene - divinylbenzenecopolymer gel), 4.6 mm ϕ \times 25 cm) に接続した流動電解セル ($V = l \times w \times h = 3.0 \times 1.8 \times 0.1$ mm³, 作用極 $S = l \times w = 3.0 \times 1.8$ mm², 対極: 不銹鋼, 参照極: SCE) に溶離液 0.1 M NaOH を $v = 1$ ml/min の速度で流した。作用極の電位は $E = 0.5$ Vvs.SCE である。これに糖溶液 (20 μ l) を注射して電流ピークを測定した。

[結果と考察]

1. Cyclic Voltammetry (CV)

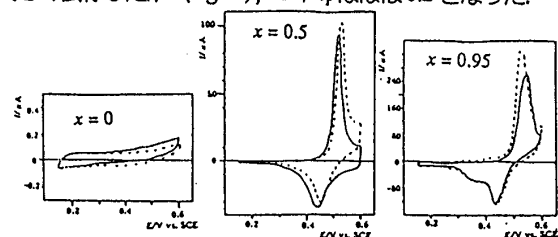
(1) 酸化還元ピーク: Ni_xTi_{1-x} 合金電極の典型的な CV ($v = 0.1$ V/sec) を Fig. 1 に示す。作用極電位 $-0.9 \sim -0.6$ Vvs.SCE 間の掃引において $0.4, 0.5$ V 付近に作用極合

金電極表面の $Ni^{2+/3+}$ の酸化還元ピークが観察された。一般にNi表面は $E = -0.68$ Vvs. SCE で $Ni(OH)_2$ 酸化膜を作ることが知られている²⁾。このピークは $Ni(OH)_2$ 酸化膜がさらに酸化され $NiOOH$ 酸化膜を形成する電位に対応している。このピーク面積より電極表面の電子移動サイト密度 ρ を求めた。 ρ は組成 x と共に上昇した (Fig. 2)。これは活性サイトが Ni と直接に関係していることを示している。またNi金属 (111) 面の原子面密度は 1.9×10^{15} /cm² なので、純 Ni では表面から約6層の深さまで、 $x = 0.3$ 付近のTiの多い合金では表層のみに活性サイトが形成されていると考えられる。

Fig. 1. Typical CV curve at Ni_xTi_{1-x} alloy electrodes in 0.1M NaOH.Fig. 2 Surface density of Ni^{2+} oxidized by anodic current

(2) 糖の酸化電流: 溶液に糖を加えると酸化還元電位付近の酸化電流が増した。sorbitol 濃度 $c = 0$ mM (実線) と $c = 0.5$ mM (破線) の CV 曲線を Fig. 3 に示す。純 Ti ($x = 0$) 電極では糖濃度による電流は殆ど増加せず、Ti 表面は糖の酸化に関与していなかった。また糖による酸化電流は x とともに大きくなった。

この酸化ピーク電流密度 i_p の糖 (sorbitol) 濃度 c による増加はよい直線形を示した (Fig. 4)。葡萄糖においても同様な結果が得られた。これらの直線の傾き $G = (di_p / dc)_x$ は糖検出感度に相当すると考えられ、この値は組成 x に大きく依存したが (Fig. 5), G / i_p はほぼ 0.2 となった。

Fig. 3 CV of sorbitol in 0.1M NaOH, sorbitol: $c = 0$ mM (solid curves), 0.5 mM (dashed curves), $v = 50$ mV/sec, $T = 25$ °C

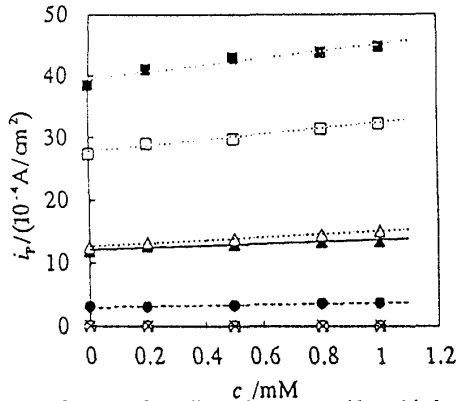


Fig. 4 Change of anodic peak current with sorbitol concentration in 0.1 M NaOH. c : sorbitol concentration, i_p : peak current density, \circ : $x = 0.11$, \times : $x = 0.245$, \bullet : $x = 0.33$, \blacktriangle : $x = 0.5$, \triangle : $x = 0.6$, \blacklozenge : $x = 0.75$, $+$: $x = 0.95$

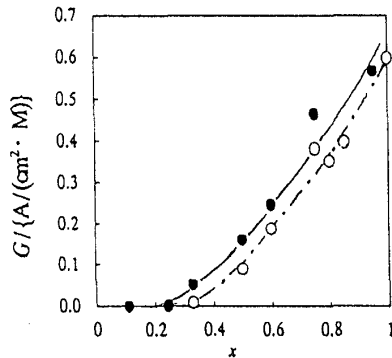


Fig. 5 Relation between x and G . x : mole fraction of Ni, $G = (\partial i_p / \partial c)_x$, \circ : glucose, \bullet : sorbitol

2. 流動電極セルによる糖検出

展開液に糖 (sorbitol) 溶液 (糖総量 n) を注射すると、それに依じて流動電極における酸化電流が増加しピーク形を表す。このピーク面積より求めた電荷 Q より $N = Q/2e$ として酸化糖量 N を求め、これを注入糖量 n と比較した (Fig. 6)。両対数プロットを取ると両者はほぼ3桁にわたって傾きが約1の直線となり、糖濃度が μmol から pmol の広範囲の検出に対応しうることがわかった。流動電極では、固相内拡散時間が制限され、表面のサイトしか電子移動反応に関与しないため、合金組成はその酸化効率特性にあまり依存しない。

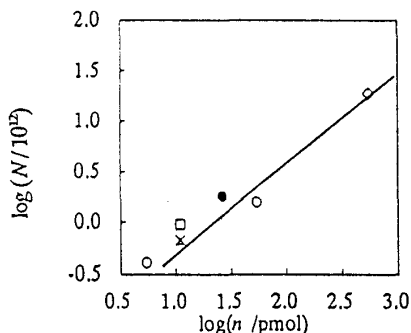


Fig. 6 Relation between n and N . n : amount of injected sorbitol, N : oxidized sorbitol calculated by Q , $N = Q/2e = i_p \cdot \Delta t / 2e$, \circ : $x = 0.245$, \square : $x = 0.33$, \triangle : $x = 0.5$, \times : $x = 0.8$, \bullet : $x = 0.85$, \diamond : $x = 0.95$,

3. 電極表面の安定性

電極表面での糖酸化触媒反応機構は以下のように考えられる。強アルカリ溶液中で電極電位を -0.68 V vs. SCE とすると Ni 金属表面には $\alpha\text{-Ni(OH)}_2$ 膜が形成される。 α 膜は水を多く含み不安定で構造も緻密でないため、イオン類は膜を通過し易く、さらに深い領域までの酸化が進行し得る。

この α 型から水が取れたものが $\beta\text{-Ni(OH)}_2$ 膜である。 β 膜は安定かつ緻密な構造であるため膜を通過するイオンの動きを必要とする電流は流れなくなる。即ちそれより上の酸化腐蝕は進行しない。

β 膜中の Ni^{2+} は、電位を 0.5 V にすると、電子を放出して Ni^{3+} になる。この電子の金属バルク側への放出に伴って H^+ は溶液側へ放出され、 $\beta\text{-Ni(OH)}_2$ は $\beta\text{-NiOOH}$ となる。この電子とプロトンの移動が Fig. 1 の酸化ピークに対応している。この様にして生成した β 膜 Ni^{3+} 中の正孔は酸化エネルギーが十分に大きくする能力がある。

しかし β 膜の Ni が 2 価から 3 価になると、 $\beta\text{-NiOOH}$ 層間に水分子が入り込み $\gamma\text{-NiOOH}$ となり、この γ 型再び還元すると、不安定な α 型に戻ってしまう。これが β 酸化膜の γ 劣化である。この劣化により Ni 金属の更なる腐蝕が進む。

Ni-Ti 合金を電極として用いれば、電極表面にまず TiO_2 膜が形成され、これが Ni^{3+} β 膜への水の進入を防止し、 γ 劣化を止めるのではないかと推測される。

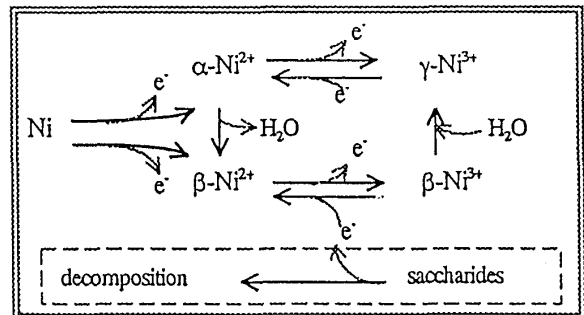


Fig. 7 Formation of oxidation film on Ni metal surface

【謝辞】

本研究にご指導・ご協力頂きました山下順三教授、東京医科大学荒井貞夫助教授、北原恵一講師及び見玉歩学生に感謝致します。

【参考文献】

1. P. F. Luo, T. Kuwana, *Anal.Chem.*, 66, 2775 -2782 (1994)
2. R. S. S. Guzman, J. R. Vliche and A. J. Arvia, *J. Electrochem. Soc.*, 125, 1578-1587 (1971)

【発表状況】

1. 「Ni-Ti合金の結晶構造と状態図」, 生活工学研究 1 (2), 114 (1999)
2. 「アミノ酸と蛋白質の構造」, 生活工学研究 2 (1), 114 (2000)
3. 「カルボニル $\alpha\text{-H}^+$ と $\beta\text{-OH}$ 」, 生活工学研究 2 (2), 98 (2000)
4. 「合金電極と糖の検出」, 生活工学研究 3 (1), (2001)
5. 「合金電極による糖の分析」, 第19回環境生理学研究会, 1999年 7月 A2, 長野
6. 「合金電極による糖の検出」, 第20回環境生理学研究会, 2000年 7月 B2, 長野
7. 「Ni-Ti合金電極による葡萄糖の分析」, 第10回クロマトグラフィー科学会議記念大会, B10, 東京, 1999