

## 未知試料の概略組成の初度的判別ツールの開発

熊谷知哉\* 坂本大輔\* 常見崇史\* 伊藤幸希\* 代龍之介\*

### Establishment of Tool to Cluing up Composition Analysis Method for Unknown Sample

KUMAGAI Tomoya, SAKAMOTO Daisuke, TSUNEMI Takashi, ITO Yuki, DAI Ryunosuke

抄録

未知の水溶液試料を成分分析する際に、分析方針の決定に有効な概略組成判別を簡易で迅速に行う手段について検討した。電気化学プロファイル手法に、増感剤による高感度化の手法を取り入れ、対象物質による各種増感剤への感受性の違いや、電気化学プロファイルのパターン形状の違いを指標とした判別を試みた。対象物質14種類の各水溶液について、7種類の増感剤を添加して電気化学プロファイルを取得し、それらを参照データとすることにより、有機酸類、アミノ酸類、糖類などの類型判別の可能性を見出した。

キーワード：未知試料，概略組成判別，電気化学プロファイル，増感剤

## 1 はじめに

日頃の技術相談対応において、未知の水溶液試料の成分分析に関する依頼を受ける。

含有物質により分析手法が異なるため、試料について十分な事前情報が得られない場合、分析方針の決定が難しい。その場合に、簡単で迅速な手法で概略組成を推定できれば、その後の分析方針の決定が容易になり、職員の生産性向上と相談者の利便性向上につながる。

そこで、これまでに研究を行ってきた電気化学プロファイルの手法を活用し<sup>1)~3)</sup>、概略組成を初度的に判別するツールを検討した。

電気化学プロファイルとは、試料中に電極を浸し所定の電圧プログラムを印加した際に得られる電流形状と既存情報を紐づけた、物質固有情報である。

簡易で迅速な測定を特徴としており、既知試料のパターン形状から、未知試料の組成判別が可能である<sup>3)</sup>。本研究では測定感度の向上を図るため、金属塩類を増感剤として試料に添加する方法を検討し<sup>4)5)</sup>、

パターン形状の違いに加え、各種増感剤への感受性の違いを指標とした判別表を作成した。これにより未知試料に対する電気化学プロファイル手法を用いた類型判別の可能性を見出した。

## 2 実験方法

### 2.1 実験装置

電極には(有)エスカル製スクリーン印刷金電極 ESQ03、定電位電解装置には(株)バイオデバイステクノロジー社製小型ポテンショスタット BDTminiSTART100 を使い、パソコンからの操作で電気化学計測を行った。

計測方法は、わずかな組成変化を高感度に検知できることで知られる微分パルスボルタンメトリ(DPV)とし<sup>6)7)</sup>、図1の印加電圧パターンとした。

電極の表面状態を一定とするため、計測の都度、酸、アルカリおよび純水処理による表面洗浄を行った。酸処理は、センサー電極と Pt/Ti 電極を処理液(HNO<sub>3</sub>:0.2:mol/L、HCl:0.1mol/L 水溶液)に浸し、約 90~110 $\mu$ A となるよう 30s 電圧印加して行った。アルカリ処理も同様に、センサー電極と Pt/Ti

\* 材料技術事業化支援室 化学技術担当

電極を処理液 (NaOCl:6.6mol/L、NaOH:0.25mol/L 水溶液) に浸し、約 70~80 $\mu$ A となるよう 60s 電圧印加して行った。

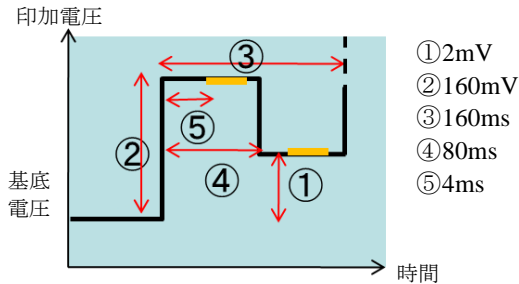


図1 DPVの印加電圧パターン

## 2.2 判別表作成のための測定試料

試料は、測定対象成分濃度 0.15mol/L 以下または 0.015mol/L 以下の水溶液を 4 水準調製し、増感剤を 0.021mol/L 添加した。測定対象成分として没食子酸、ヒドロキノン、カフェイン、酢酸、クエン酸、ギ酸、アルギニン、システイン、フェニルアラニン、グルコース、ラクトース、フルクトース、エチレングリコール、グリセリンの 14 種類を供試した。増感剤としては、塩化ニッケル、塩化

銅(II)、塩化鉄(III)、フェロシアン化カリウム、フェリシアン化カリウム、過マンガン酸カリウム、硝酸銀の 7 種類を供試した。

## 2.3 判別表検証のための疑似未知試料

1.5mol/L エチレングリコール水溶液に、オゾン含有ガスを注入率 320mg オゾン/(min・L<sub>aq</sub>)で 8h 通気し、疑似未知試料とした。

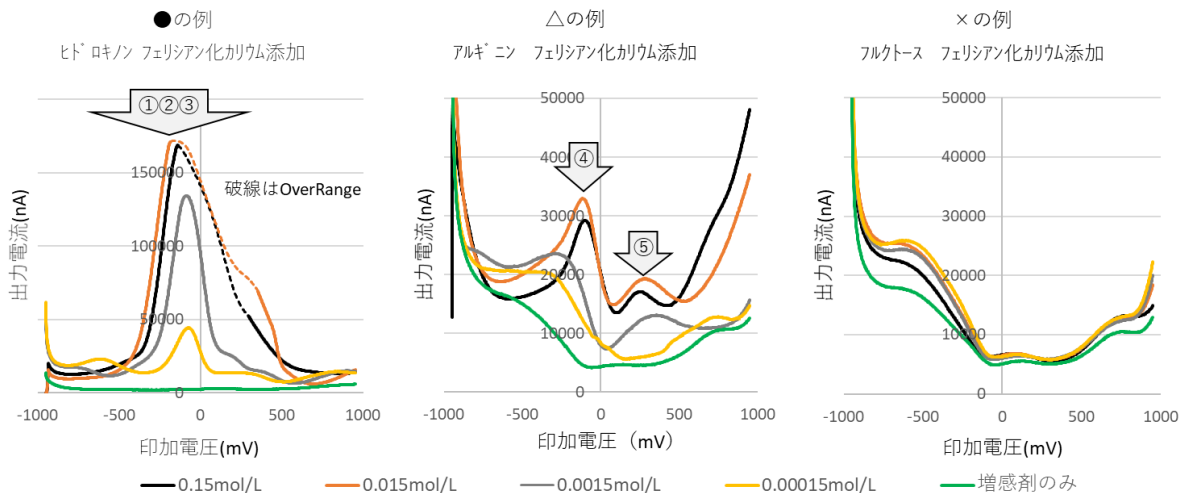
## 3 結果及び考察

### 3.1 増感剤感受性による判別表の作成

増感剤無添加の場合を含めた 14 $\times$ (7+1)=112 件の電気化学プロファイルについて、一定の基準により、感受性あり(●)、やや感受性あり(△)、感受性わずか(×)に区分けした。図2に、区分け基準および●、△、×ごとの電気化学プロファイルを一例ずつ示した。●、△、×の例の順に、特定の印加電圧値における明瞭なピークと濃度依存性が認められた。

測定対象物質の類型に対する、増感剤の感受性を区分けた判別表を表1にまとめた。

対象物質によって、その類型ごとに●、△、×



●の条件 ①②③を満たすこと

- ①：試料溶液において最低値の5倍以上の極大値あり
- ②：上記極大値と同印加電圧において、極大値と増感剤BLANK液出力値に2倍以上の違い
- ③：上記極大値と同印加電圧において、0.015mol/Lと0.00015mol/Lで出力値に2倍以上の違い

△の条件 ④⑤を満たすこと

- ④：試料溶液において最低値の2倍以上の極大値あり
- ⑤：任意の印加電圧において、試料溶液と増感剤BLANK液で出力値に2倍以上の違い(極大値においてでなくても可)

×の条件 ●、△に該当しないこと

図2 増感剤感受性による電気化学プロファイルの区分け基準及び例示

表1 測定対象物質の類型に対する増感剤感受性の区分け(●△×)を指標とした概略組成判別表

測定対象		増感剤							
		なし	塩化ニッケル	塩化銅(Ⅱ)	塩化鉄(Ⅲ)	フェロシアン化カリウム	フェリシアン化カリウム	硝酸銀	過マンガン酸カリウム
ポリフェノール類	没食子酸	×	△	●	●	△	●	●	×
	ヒドロキノン	×	●	●	●	●	●	●	△
	カフェイン	×	×	△	●	×	△	●	×
有機酸類	酢酸	×	×	△	×	●	△	△	●
	クエン酸	△	△	×	×	●	△	●	×
	ギ酸	△	△	×	×	●	●	●	×
アミノ酸類	アルギニン	×	×	●	●	△	△	●	×
	システイン	×	×	●	●	●	●	△	×
	フェニルアラニン	×	△	×	●	△	×	△	×
糖類	グルコース	×	△	△	×	×	△	●	×
	ラクトース	×	△	△	×	×	△	△	×
	フルクトース	×	△	△	×	×	×	●	×
多価アルコール類	エチレングリコール	×	△	△	×	×	×	●	△
	グリセリン	×	×	△	×	×	×	△	×

の分布に傾向の違いが確認された。即ち、ポリフェノール類では表中の塩化ニッケル～硝酸銀、有機酸類ではフェロシアン化カリウム～過マンガン酸カリウム、アミノ酸類では塩化銅(Ⅱ)～硝酸銀、糖類や多価アルコール類では硝酸銀に対し●が多く見られ、これらの違いを指標として測定対象物質の類型判別が可能と考えられた。

### 3.2 パターン形状を直接的に指標とした判別

表1の判別表により測定対象物質の類型を推定することが可能であるが、ポリフェノール類とアミノ酸類のように、●△×の傾向の違いがさほど大きくなく判別が難しい場合も想定される。そのような場合には、電気化学プロファイルを直接参照し、パターン形状の違いを指標とすることが有効となる。

図3に、ポリフェノール類3物質およびアミノ酸類3物質について、それぞれフェロシアン化カリウムを増感剤として取得した電気化学プロファイルを示した。ポリフェノール類とアミノ酸類とでは、印加電圧500mV～750mV付近におけるピークの形状に違いがあった。そこで、同印加電圧値の範囲における出力電流の平均値をそれぞれ算出し、対象物質により比較した結果を図4に示した。

濃度0.015mol/L、0.0015mol/Lにおいては、すべてのアミノ酸類がポリフェノール類よりも高い値となっていた。0.00015mol/Lではシステインを除

けばアミノ酸類の方が高い値となり、ポリフェノール類とアミノ酸類とでは傾向の違いが認められた。このことより、電気化学プロファイルパターン形状を直接的に指標とした判別方法の一例として、出力電流平均値(vs.500mV～750mV)の違いによりポリフェノール類とアミノ酸類の判別が可能であった。

### 3.3 概略組成評価の妥当性の検証

表1の判別表や電気化学プロファイルパターン形状による、概略組成の判別の妥当性を検証するため、2.3で調製した疑似未知試料について、電気化学プロファイル測定により類型を予測した。

疑似未知試料の組成はガスクロマトグラフ質量分析装置(GC/MS)により確認した。

増感剤感受性についての評価結果を表2に示した。フェロシアン化カリウム、フェリシアン化カリウム、硝酸銀による増感剤感受性が明瞭に認められる結果となり、表1の判別表を参照すると有機酸類の含有が予測された。

さらに、疑似未知試料および類型の異なる5試料について、対象物質濃度(疑似未知試料についてはオゾン処理前のエチレングリコール濃度)0.015mol/L、塩化ニッケルを増感剤とした電気化学プロファイルを図5に示した。疑似未知試料とギ酸のパターン形状が類似しており、いずれも図中矢印で示した印加電圧-500mV付近および

400mV 付近にピークを有していた。即ち、パターン形状を直接参照した結果からも、改めて疑似未知試料には有機酸類の含有が予測された。

疑似未知試料中の有機成分について確認するた

め、酢酸エチル抽出-GC/MS 法により分析した結果を図 6 に示した。エチレングリコールやトリエチレングリコールの他、オゾン処理による反応生成物と考えられるギ酸、酢酸由来の有機酸類のピ

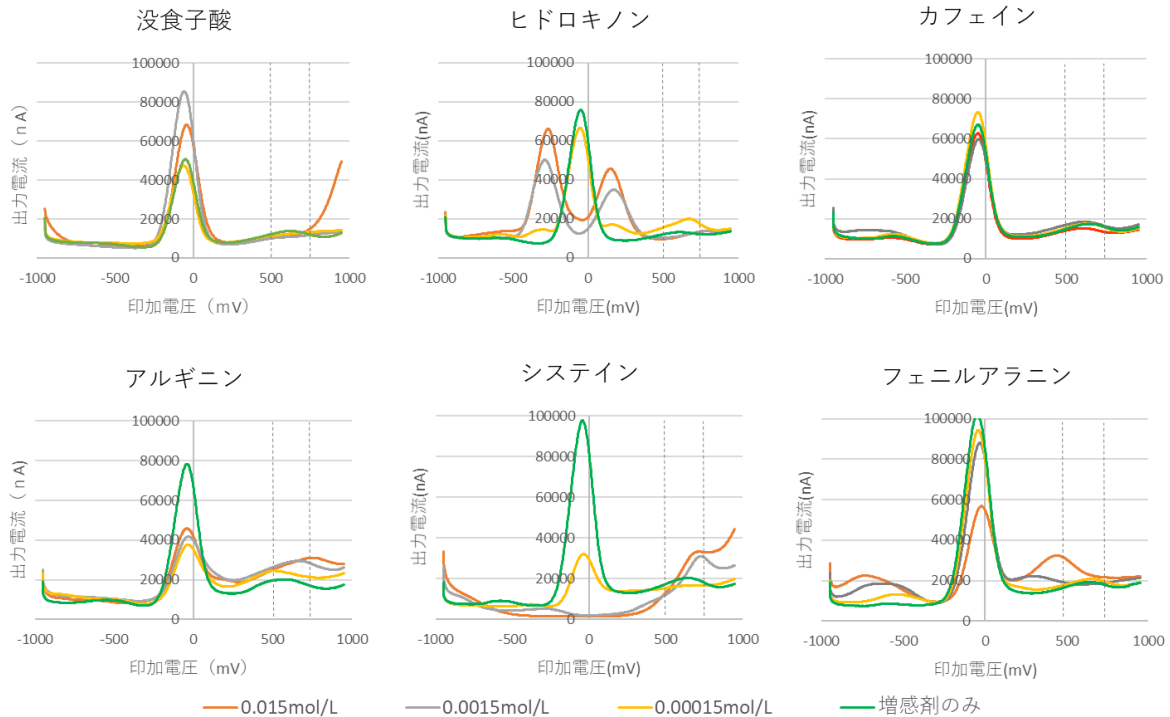


図 3 ポリフェノール類 (上段) とアミノ酸類 (下段) の電気化学プロファイル (フェロシアン化カリウム添加)

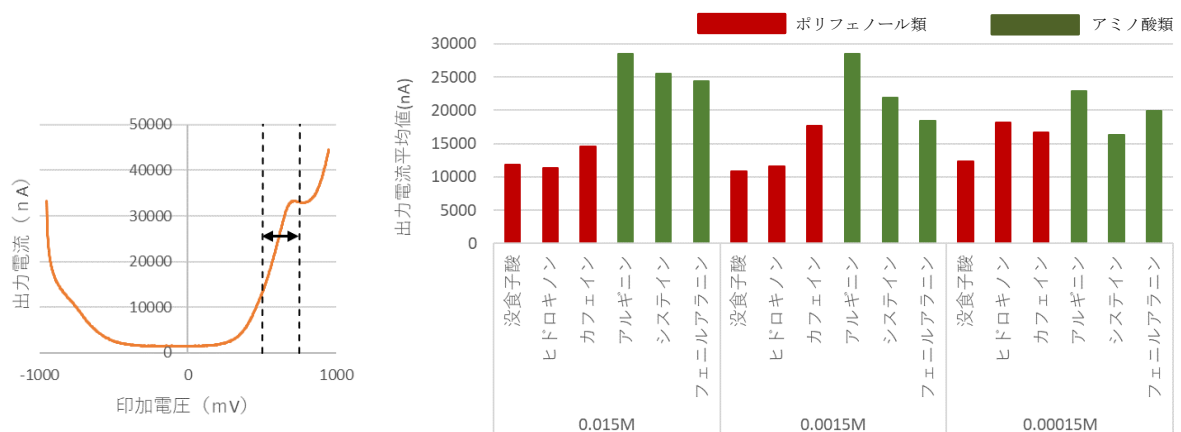


図 4 測定対象物質による出力電流平均値 (vs 印加電圧 500mV~750mV) の違い

表 2 疑似未知試料に対する測定結果と判別表との照合による予測

測定対象	増感剤	なし	塩化ニッケル	塩化銅 (II)	塩化鉄 (III)	フェロシアン化カリウム	フェリシアン化カリウム	硝酸銀	過マンガン酸カリウム
	疑似未知試料	オゾン処理エチレングリコール	×	×	△	×	●	●	●
<表1抜粋>									
有機酸類	酢酸	×	×	△	×	●	△	△	●
	クエン酸	△	△	×	×	●	△	●	×
	ギ酸	△	△	×	×	●	●	●	×

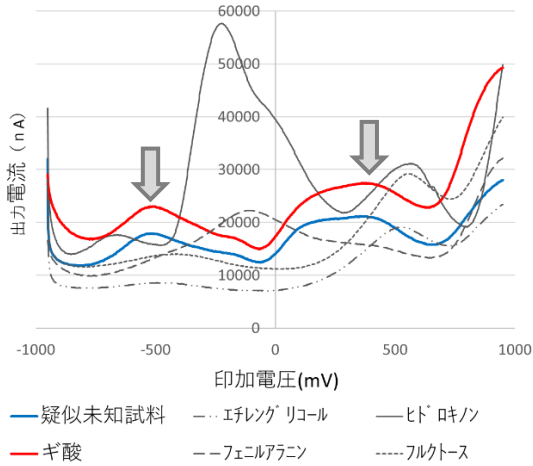


図5 疑似未知試料および類型の異なる5試料の電気化学プロファイル (対象成分:0.015mol/L塩化ニッケル添加)

ークが認められた。

以上の結果から、判別表や電気化学プロファイルパターン形状による予測と、GC/MSでの分析結果が一致し、今回検討した概略組成判別方法の妥当性が検証された。

#### 4 まとめ

対象物質14種類の各水溶液について、7種類の増感剤を添加し電気化学プロファイルを取得した。各対象物質の増感剤感受性や電気化学プロファイルパターン形状の違いについて検討し、次の結論を得た。

##### (1) 増感剤感受性による概略組成評価

組成既知の水溶液試料の電気化学プロファイルについて、増感剤感受性の程度により三区区分した判別表を作成した。未知の水溶液試料の測定結果を判別表と照合することにより、類型判別の可能性を見出した。

##### (2) パターン形状を直接的に指標とした概略組成評価

ポリフェノール類とアミノ酸類など、判別表だけでは類型判別が難しい場合について、電気化学プロファイルのパターン形状の違いを直接的に指標とした類型判別の可能性を見出した。

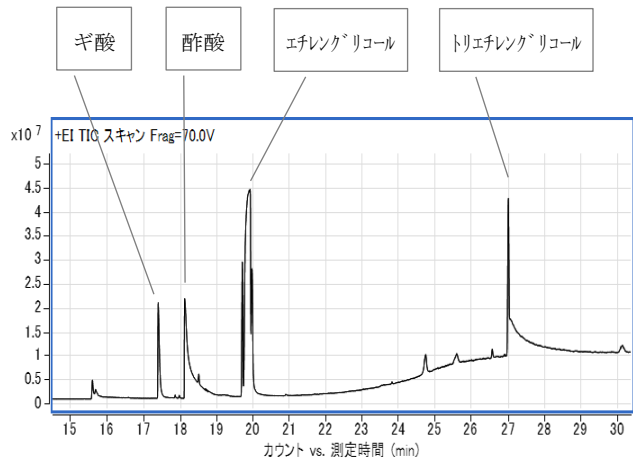


図6 疑似未知試料のGC/MSによる分析結果 (Agilent GC/QTOF、カラム:DB-1、酢酸エチル抽出法)

今回検討した概略組成判別の手段を用いて、今後は、洗浄剤、水溶性切削油、電解エッチング液などの実試料への適用性を検討していく。

#### 参考文献

- 1) 熊谷知哉、関根正裕、亀山文一郎 “電気化学プロファイルを利用した迅速・簡便な小型水質評価システムの開発”, 埼玉県産業技術総合センター研究報告, vol. 16, (2018).
- 2) 熊谷知哉、焼田裕之 “電気化学プロファイルによる水中炭酸濃度評価”, 埼玉県産業技術総合センター研究報告, vol. 20, (2022).
- 3) 埼玉県, 真韻 (株), “品質評価装置”, 特許第 5282231 号
- 4) 守岩友紀子 “金属イオンと薬物間の錯体形成を検出するためのハイスループットスクリーニング法の開発”, 東京薬科大学 博士学位論文, (2019)
- 5) 小谷智子 “薬物定量用電気化学検出 HPLC の高感度化とその応用”, 東京薬科大学 博士学位論文, (2015)
- 6) B.Jill Venton, Dana J. Discenza, "Voltammetry", *Electrochemistry for Bioanalysis* (2020).
- 7) F.R.Simoes, M.G. Xavier, "Electrochemical Sensors", *Nanoscience and its Applications* (2017).