

硝酸イオンを現場で簡単に測る



中山 雅晴

1 はじめに

人間活動による二酸化炭素の過剰な蓄積が炭素循環を攪乱し、気候に影響を与えていることはよく知られている。さらに、人間活動起源の反応性窒素（窒素分子を除く、アンモニア、硝酸など）の放出による窒素循環の乱れもまた地域環境だけでなく、地球の気候に影響を与えることが明らかになった¹⁾。

硝酸塩は、自然界の窒素循環に含まれる主要な窒素化合物で、植物の生理学的機能に重要な役割を果たしており、適切な発育に必須である。また、人間が野菜や果物などから摂取する硝酸塩は、体内で一酸化窒素に変換され、血流の改善など有益な効果をもたらす。しかし、硝酸塩が蓄積し、過剰になると環境や人間の健康にとって有害な作用を及ぼす²⁾。

硝酸塩の発生源として農業における施肥が挙げられる。土壌の過剰な硝酸塩は、脱窒プロセスを経て一酸化二窒素などの温室効果ガスに変換される点が、地球環境保護の観点から問題である。もう一つの問題は、難分解性と水への溶解度の高さであり、土壌から水圏に容易に拡散される。水圏における硝酸塩の蓄積は藻類や植物プランクトンの生産を加速させ、湖や河川の富栄養化の原因となる。これらは多くの酸素を消費するため、酸素欠乏地帯が発生し、魚やその他の水生生物の生存を脅かす。そして、最終的には生態系の崩壊につながる。このため、硝酸イオンを携帯可能な装置によって、簡単に効率よくリアルタイムで検出できることが望まれている。

2 硝酸イオンの分析

硝酸イオンの分析には、亜硝酸イオンへの還元後の比色法、分光光度法、蛍光分光法、イオンクロマトグラフィ、キャピラリー電気泳動、ポーラログラフィー、ラマン分光法、化学発光、分子インプリンティング技術、電界効果トランジスタなどが用いられてきた³⁾。しかし、これらの方法のほとんどは、煩雑なサンプリング

プロセス、高度な機器、十分な作業スペース、あるいは熟練した技術者が必要といった欠点に伴う。対照的に、電気化学的手法は、その簡便さ、高感度、高精度、広い測定範囲、手頃な価格、使い易さ、現場配備型機器への適合性から、最近有望なアプローチとして浮上してきた。

3 硝酸イオンの電気化学センシング

3.1 硝酸イオンセンサー

電気化学センサーは、分析対象とセンシング素子との相互作用に起因する応答を、その濃度に相関する測定可能な信号に変換するデバイスである。電気化学センサーは、一般に作用極 (WE)、対極 (CE)、参照極 (RE) で構成される。WE は電気化学反応が行われる場所であり、電子の流れを持続させるために CE と接続される。RE は WE 電位の正確な制御（あるいは測定）を保証する。WE での電気化学反応がセンサーの特性を左右するため、酵素を含む様々な物質およびその固定化技術が検討されてきた。

硝酸イオン検出に用いられる電気化学的手法として、ボルタンメトリー、アンペロメトリー、ポテンシオメトリーが挙げられる。他方、電気化学インピーダンスの適用は限定的である。ボルタンメトリーは、電位の印加方法によって、リニアスイープボルタンメトリー (LSV)、サイクリックボルタンメトリー (CV)、ディファレンシャルパルスボルタンメトリー (DPV)、スクエアウェーブボルタンメトリー (SWV) に分けられる。ボルタンメトリーの利点は、酸化/還元電位が十分離れていれば、ポテンシオスタットによって分離可能であり、複数のターゲットを同時に測定できる点である。いくつかの研究グループが複数の反応性窒素化合物を同時に検出できるセンサーを報告している⁴⁾⁵⁾。ポテンシオメトリーは、硝酸イオンに特異的なイオンフォアまたはイオン交換体で構成されたイオン選択電極と RE 間の電位差を電流が流れていない状態で測定する方法である。

3.2 酵素センサー

酵素を組み込んだ電気化学センサーは、電極上に固定された酵素の触媒活性と電気化学プロセスを組み合わせることで機能する。硝酸還元酵素はフラビンアデニンジヌクレオチド、ヘム鉄、およびモリブドプテリンを含む複合多レドックス中心酵素として機能し、これらが協同的に作用して硝酸イオンを亜硝酸イオンに還元する (式 (1))⁶⁾。



3.3 非酵素センサー

非酵素型電気化学センサーにおける硝酸イオンの還元メカニズムは、電極に修飾される物質、使用する支持電解質、電解液の pH、印加電位などのパラメーターに強

Easily Measure Nitrate Ions in the Field.

く依存する。そこには様々な中間体や生成物の形成につながる多電子移動プロセスが含まれる。すなわち、硝酸イオンがまず中間体である亜硝酸イオンに還元され、これが律速段階となる。その後、亜硝酸イオンが最終生成物に還元される。硝酸イオンの電気化学還元プロセスは式(2)~(10)によって示される。

酸性：



中性~アルカリ性：



Bui らは、カーボンペーパー電極上に担持させたセレン粒子と金ナノ粒子が律速段階である NO_3^- の2電子還元反応(式(2), (5))を促進する触媒として機能し、硝酸イオンに対する分析感度の向上をもたらすことを報告した⁷⁾。一方、Öznülüer らは、グラフェン修飾銅電極を使って、6電子反応である NO_2^- - NH_3 変換(式(6))に由来する電流によって硝酸イオンを高感度検出した⁸⁾。

3・4 最近の研究動向

過去20年間、Ru, Rh, Ir, Pt, Pd, Cu, Ni, Agなどの金属が、硝酸イオンの非酵素的電気化学センシングのために用いられてきた。その中でCuは硝酸イオン還元にも最も有望な電極触媒であることが判明した。Cuは複数の原子価(Cu(0), Cu(I), Cu(II))をとり、硝酸イオンの還元反応を活性化する⁹⁾。様々なナノ材料が電極に組み込まれ、硝酸イオン検出に大きな成果をもたらしてきた。ナノ材料修飾電極には、迅速な応答、過電圧の低下、その結果としての高感度、高選択性などの利点がある。硝酸センシングのためのナノ材料としては、グラフェン(および酸化グラフェン)、カーボンナノチューブ(CNT)、カーボンクロス、金属、合金、金属酸化物ナノ粒子、導電性ポリマーなどがある。

例えば、電極を被覆したポリカーボネート膜の細孔内で成長したCuナノワイヤーは、電極表面積を著しく増大させ、裸のCu電極よりも著しく低い検出限界(9.1 μM)を与えた¹⁰⁾。その他の設計としては、イオンインプリントCuナノ粒子-ポリアニリンナノコンポジット電極¹¹⁾、 TiO_2 コアシェルをナフィオンやポリアリザリンと複合化したCu¹²⁾があり、検出限界はそれぞれ5 μM と2.1 μM と報告された。Bagheri らは、電気化

学的に還元した酸化グラフェン(GO)と多層カーボンナノチューブ(MWCNT)上にCuナノ粒子を電析させた複合体を作製した¹³⁾。GOとMWCNTを組み合わせることで、GOの凝集が抑えられ、電気化学的に利用可能な表面積が増大した。さらに、還元GO/MWCNTは電析Cuナノ粒子を効果的に安定化させ、材料内の電子移動速度を大幅に向上させた。さらに、この研究では、硝酸イオンと亜硝酸イオンの同時検出が達成された。電気化学シグナルが増幅された結果、検出下限は0.02 μM に達した。

ナノ材料の著しい進歩や装置の小型化・インテリジェント化により、硝酸イオン検出のための電気化学センサーの分析性能や携帯性は大幅に向上した。しかし、現場でのリアルタイム分析に適合するためには、さらにサンプルマトリックス中の不純物の問題、環境変化への対応、現場でのメンテナンスなどの課題をクリアしてゆく必要がある。

文 献

- 1) C. Gong, H. Tian, H. Liao, N. Pan, S. Pan, A. Ito, A. K. Jain, S. Kou-Giesbrecht, F. Joos, Q. Sun, H. Shi, N. Vuichard, Q. Zhu, C. Peng, F. Maggi, F. H. M. Tang, S. Zaehle : *Nature*, **632**, 557 (2024).
- 2) T. M. Addiscott, T. M. Addiscott, N. Benjamin : *Soil Use Manag.*, **20**, 98 (2004).
- 3) R. K. A. Amali, H. N. Lim, I. Ibrahim, N. M. Huang, Z. Zainal, S. A. A. Ahmad : *Trends Environ. Anal. Chem.*, **31**, e00135 (2021).
- 4) J. Wang, P. Diao : *Microchem. J.*, **154**, 104649 (2020).
- 5) A. Baciú, F. Manea, A. Pop, R. Pode, J. Schoonman : *Process Saf. Environ. Prot.*, **108**, 18 (2017).
- 6) V. Hooda, V. Sachdeva, N. Chauhan : *Rev. Anal. Chem.*, **35**, 99 (2016).
- 7) M. N. Bui, J. Brockgreitens, S. Ahmed, A. Abbas : *Biosens. Bioelectron.*, **85**, 280 (2016).
- 8) T. Öznülüer, B. Özdurak, H. Öztürk Doğan : *J. Electroanal. Chem.*, **699**, 1 (2013).
- 9) A. M. Stortini, L. M. Moretto, A. Mardegan, M. Ongaro, P. Ugo : *Sens. Actuators B Chem.*, **207**, 186 (2015).
- 10) B. Patella, R. R. Russo, A. O'Riordan, G. Aiello, C. Sunseri, R. Inguanta : *Talanta*, **221**, 121643 (2021).
- 11) H. Essousi, H. Barhoumi, M. Bibani, N. Ktari, F. Wendler, A. Al-Hamry, O. Kanoun, J. Sens., **2019**, 1 (2019).
- 12) N. Amini, A. Maleki, P. Maleki : *Mater. Chem. Phys.*, **264**, 124384 (2021).
- 13) H. Bagheri, A. Hajian, M. Rezaei, A. Shirzadmehr : *J. Hazard Mater.*, **324**, 762 (2017).



中山 雅晴 (NAKAYAMA Masaharu)

山口大学大学院創成科学研究科(〒755-8611 山口県宇部市常盤台2-16-1)。山口大学大学院工学研究科修士課程修了。博士(工学)。《現在の研究テーマ》電極物質の作製・評価とエネルギー・環境応用。《主な著書》“グリーン水素製造に向けた水電解および周辺技術”。(分担),(2023),(情報機構)。《趣味》献血。

E-mail : nkymm@yamaguchi-u.ac.jp