

9008 金属イオン濃度計測のための光ファイバー化学センサーシステムの開発とその海水濃縮工程への応用

石橋 信彦(九州大学)

1. 本研究では、海水濃縮工程に適用可能な金属イオンセンサー、なかでもアルカリ金属イオンを連続的かつ選択的に計測する光ファイバー化学センサーシステムを開発することを目的とした。

2. カリウムイオンのイオノフォアであるバリノマイシン、イオン交換体、可塑剤、及びポリ塩化ビニルをテトラヒドロフランに溶解し、テトラヒドロフランを揮散させて、電気化学的なカリウムイオン感応膜を作製した。この感応膜を光ファイバーの先端に取り付け、これを蛍光プローブであるドデシルアクリジンオレンジ(d-AO⁺Br⁻)水溶液に浸し、d-AO⁺を膜に固定して光学的な感応膜を作製した。励起光源にはアルゴンイオンレーザーを用い、感応膜からの蛍光を光電子増倍管-ロックインアンプにより測定した。

3. センサー応答 試作したセンサーは0~100 mMのカリウムイオン濃度に対して可逆的に応答し、その測定誤差は±0.3 mM、応答時間は20秒と迅速であった。また、試作したセンサーは、0~100 mMのCa²⁺、SO₄²⁻、NO₃⁻イオンに反応せず、高いカリウムイオン選択性を有していた。しかし、d-AO⁺の脂溶性が低いため、膜内から試料溶液へ蛍光プローブが溶出し、センサー応答信号の経時的な減少が観測された。

応答機構 d-AO⁺は、極性の低い溶媒中で強い蛍光性となる疎水性蛍光プローブである。はじめに、d-AO⁺は膜内にあり、可塑剤の極性が低いため強い蛍光が得られる。次に、試料溶液中のカリウムイオンは膜内に選択的に抽出され、正電荷をもつd-AO⁺はカリウムイオンとのイオン交換により膜内から試料溶液へと移動する。このときd-AO⁺周囲の極性が増大し、蛍光強度が減少する。また、d-AO⁺は長鎖アルキル基を膜内に残したまま発色団のみが移動するため、可逆的な応答が得られる。この応答モデルにより導いたセンサー応答の理論式は、得られた実験結果とよく一致した。

ヘキサデシルアクリジンオレンジ さらにアルキル鎖の長い疎水性蛍光プローブであるヘキサデシルアクリジンオレンジを合成し、蛍光プローブの脂溶性を増大させて、センサー応答の安定化を達成した。また、試作センサーにより海水におけるカリウムイオン計測を行い、実試料においても良好な結果を得た。さらに、バリノマイシンのかわりにアンモニウムイオンやカルシウムイオンのイオノフォアを用いて、これらのイオンに対して迅速、高感度かつ選択的に応答する光ファイバー化学センサーを試作し、本法により種々のイオン選択性のセンサーが開発できることを明らかにした。

9008 金属イオン濃度計測のための光ファイバー化学センサーシステムの開発とその海水濃縮工程への応用

石橋 信彦(九州大学)

1. 研究の目的

光ファイバー化学センサーは、光ファイバーの先端に分析試薬を固定し、光ファイバーを通して化学種を光学的に計測するセンサーであり(Fig.1)、イオン選択性電極などの電気化学的な測定法とは異なる新しい化学計測法として注目されている。光ファイバー化学センサーは、固定する分析試薬を選択することにより種々の化学種を計測することが可能であり、さらにリモートセンシングへの適用も容易であるなどの特徴を有しており、工程管理や臨床分析など広い分野において高性能な光ファイバー化学センサーの開発が強く要望されている。

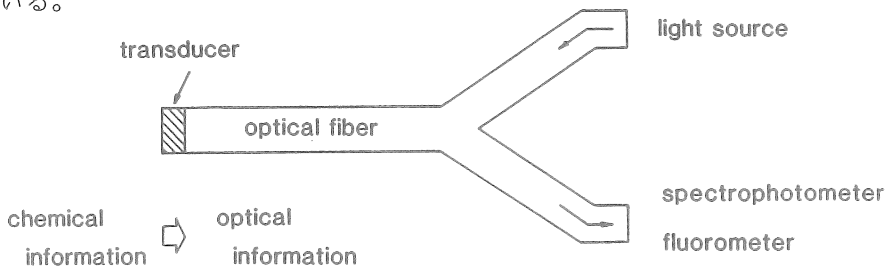


Fig.1 Fiber-optic chemical sensor

本研究では、海水濃縮工程に適用できる陽イオンセンサー、なかでもアルカリ金属イオンやアルカリ土類金属イオンを選択的かつ連続的に計測する光ファイバー化学センサーシステムを開発することを目的としている。すなわち、イオノフォアと疎水性蛍光プローブを用いてこれらイオン種に対して光学的に応答する感応膜を開発し、これを光ファイバーの先端に取り付けた光ファイバー化学センサーを試作する。次に、試作したセンサーとレーザーを光源とする高感度蛍光測定装置を組み合わせたセンサーシステムを開発し、選択的かつ連続的な金属イオン濃度の計測を行う。また、この光ファイバー化学センサーシステムの感度や選択性などセンサー性能の評価を行う。

2. 光ファイバーカリウムイオンセンサー

2.1 実験

2.1.1 実験装置

光ファイバーカリウムイオンセンサーの実験装置をFig.2に示す。励起光源にはアルゴ

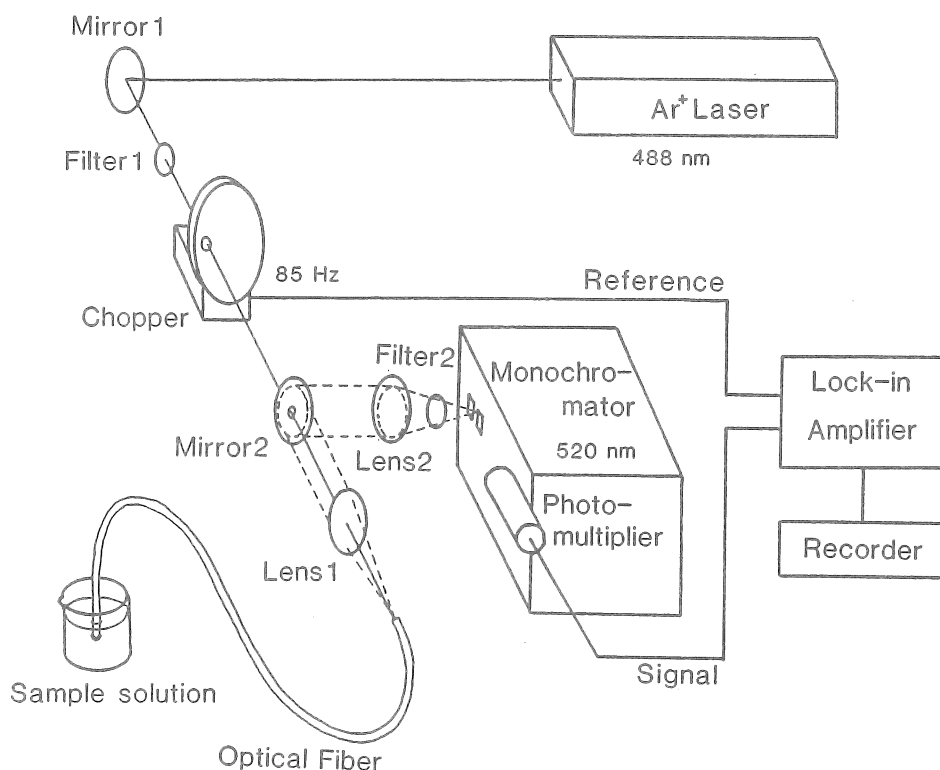


Fig.2 Schematic diagram of fiber-optic potassium ion sensor

ニオンレーザー(発振波長 488 nm、出力 10 μ W)を用い、これをチョッパーで85 Hzに矩形変調した。チョッパーからの同期信号は、ロックインアンプの参照信号とした。励起光は変調後、レンズ1により石英光ファイバー(コア径 400 μ m、クラッド径 500 μ m、長さ 2 m)に入射した。また、光ファイバーの先端には後述のようにしてカリウムイオン感応膜を取り付けた。感応膜からの蛍光は同じ光ファイバーにより取り出し(図中破線)、レンズ2によりモノクロメーターのスリット上に集光した。得られた蛍光はモノクロメーターで分光した後、その520 nmにおける蛍光強度を光電子増倍管で検出し、ロックインアンプにより測定した。

試料溶液は、KClをpH緩衝液(TRIZMA-7.5, pH7.5)に溶解、希釈して調製した。

2.1.2 カリウムイオン感応膜

K⁺イオンの選択的抽出試薬(イオノフォア)であるバリノマイシン、及びイオン交換体であるテトラキス〔3,5-ビス(トリフルオロメチル)フェニル〕ホウ酸ナトリウム(Na⁺TFPB⁻)の構造をFig.3に示す。まず、バリノマイシン 10 mg、Na⁺TFPB⁻ 1 mg、及び可塑剤であるジブチルセバシン酸 0.5 gをテトラヒドロフラン(THF) 5 mlに溶解した。この溶液にポリ塩化ビニル(PVC) 0.2 gを溶解し、シャーレに移した後、一日静置してTHFを揮散させて、

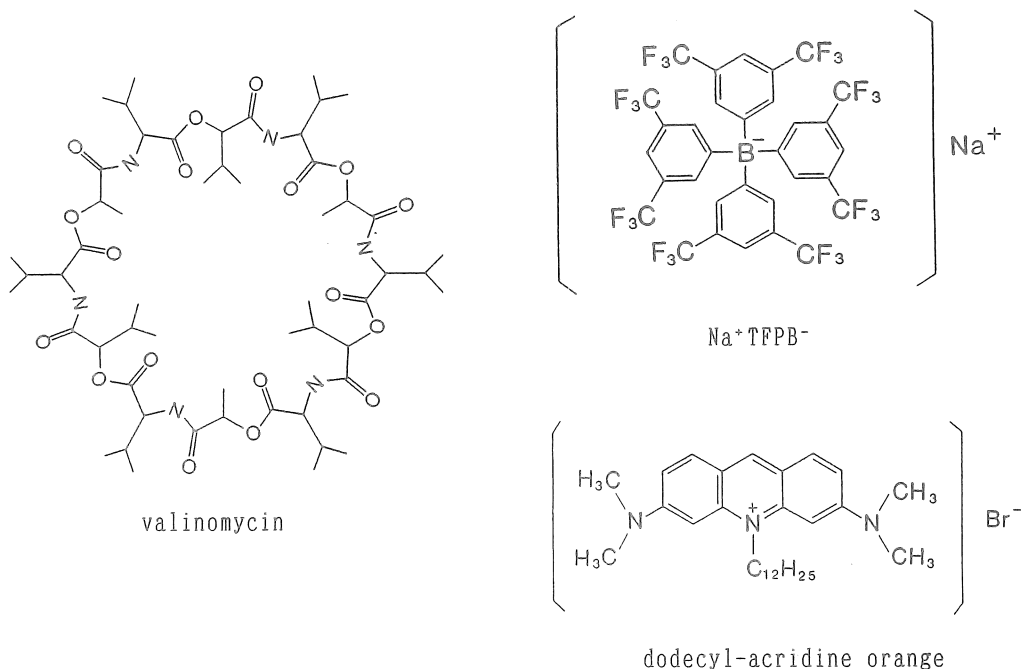


Fig.3 Chemical structures of sensing materials

膜厚 200 μmの可塑化PVC膜を得た。これは、イオン選択性電極におけるK⁺イオン感応膜と同じ膜組成である。次に、光ファイバーの先端をTHFでぬらし、約1 mm四方に切断した可塑化PVC膜に光ファイバーの先端を押しあてて接着した。この可塑化PVC膜を、疎水性蛍光プローブであるドデシルアクリジンオレンジ水溶液(10⁻⁵ M d-AO⁺Br⁻, Fig.3)に10秒間浸して、膜内のNa⁺イオンとのイオン交換によりd-AO⁺を膜に固定し、光学的な感応膜を作製した。

2.2 結果及び考察

2.2.1 センサー応答

試作したセンサーはK⁺イオン濃度変化に対して可逆的に応答し、その応答時間は20秒と迅速であった。得られた検量線をFig.4に示す。センサーからの蛍光強度は0~100 mMのK⁺イオン濃度に対して直線的に減少し、その測定誤差は±0.3 mMであった。また、セン

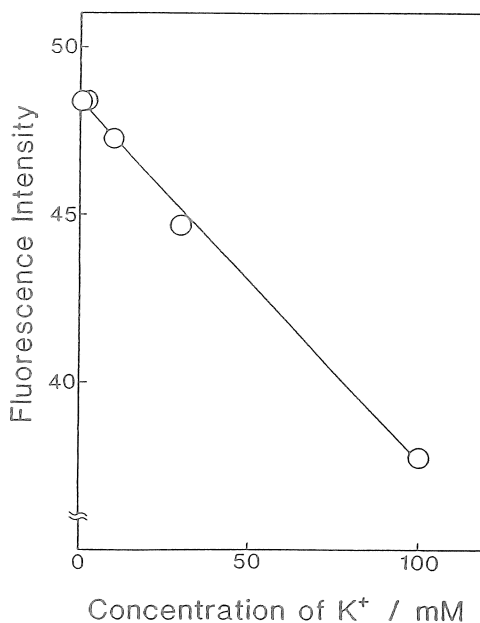


Fig.4 Calibration curve

サー応答信号の経時的な減少が観測され、d-AO⁺の脂溶性が低いため、蛍光プローブが試料溶液へと溶け出していると考えられた。試作したセンサーは、~ 100 mMのCa²⁺、SO₄²⁻、NO₃⁻イオンに応答を示さず、高いK⁺イオン選択性を有していた。

イオン選択性電極の場合、イオン活量の対数に比例した応答が得られるが、試作した光ファイバーセンサーではK⁺イオン濃度に比例した応答が得られた。そこで、作製した光学的感応膜を電極に取り付け、K⁺、Na⁺、Ca²⁺イオンに対する膜電位を測定したところ、膜電位はイオン活量の対数に比例したネルンスト応答を示した。これより、感応膜からの蛍光強度が膜電位によって変化しているのではないと考えられる。そこで、次のような応答のモデルを考え、実測のセンサー応答との比較を行った。

2.2.2 応答機構

蛍光プローブ d-AO⁺は、蛍光性のアクリジンオレンジ基が正に荷電しており、これに長鎖アルキル基(C₁₂H₂₅基)を有している。Fig.5に、pH緩衝液およびジブチルセバシン酸を溶媒としたときのd-AO⁺の励起、蛍光スペクトルを示す。これより、pH緩衝液よりジブチルセバシン酸を溶媒としたとき蛍光は著しく増大し、極性の低い溶媒中で強い蛍光を発する疎水性蛍光プローブとして有用であることがわかる。

感応膜内にはFig.6に示すように、疎水性蛍光プローブであるd-AO⁺、その対イオンであるTFPB⁻、およびK⁺イオンのイオンフォアであるバリノマイシンが含まれている。まず、試料溶液中にK⁺イオンがない場合、d-AO⁺は膜内にあり、可塑剤であるジブチルセバシン酸の極性が低いため強い蛍光が得られる。次に、試料溶液中のK⁺イオンはバリノマイシンにより選択的に膜内に捕捉される。このとき、正に荷電したd-AO⁺はイオン交換により膜内から試料溶液へと移動し、蛍光プローブ周囲の極性が増大するため蛍光強度が減少する。

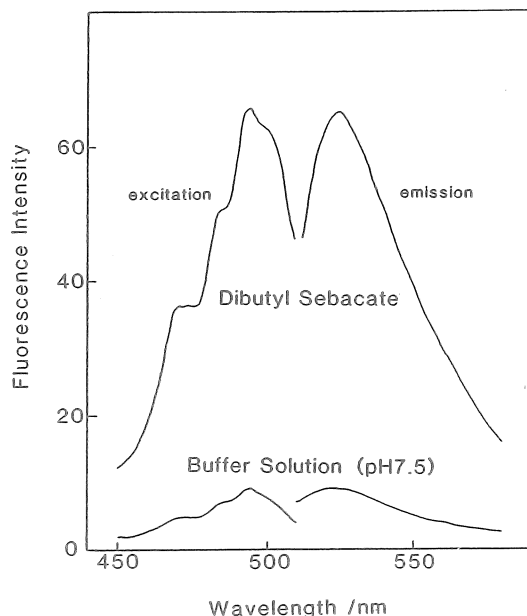


Fig.5 Fluorescence spectra of d-AO⁺

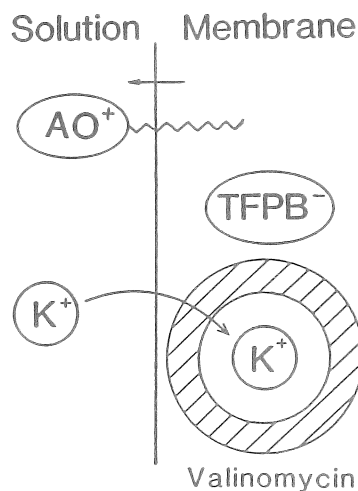


Fig.6 Response mechanism

また、d-AO⁺は長鎖アルキル基を有しており、このアルキル鎖を膜内に残したまま発色団のみが移動する。従って、d-AO⁺は試料溶液にほとんど溶け出すことがなく、またK⁺イオン濃度の減少にともないその発色団は再び膜内へ移動するため、可逆的なセンサー応答が得られるものと考えられる。次に、この応答のモデルによりセンサー応答の理論式を導いた。

$$F = k_1 \cdot [d-AO^+]^0_m - k_1 \cdot (1-k_2) \cdot (Kex_1[val]_m + Kex_2[TFPB^-]_a) [K^+]_a \quad (1)$$

ここで、Fはセンサーからの蛍光強度であり、k₁は装置定数、k₂は水溶液(添字 a)と膜溶媒(添字 m)におけるd-AO⁺の蛍光強度比である。また、[d-AO⁺]⁰_mは膜内におけるd-AO⁺の初濃度、Kex₁、Kex₂はそれぞれK⁺-バリノマイシン錯体およびK⁺-TFPB⁻のイオン対の抽出定数である。さらに、[K⁺]_aと[TFPB⁻]_aはそれぞれ水溶液におけるK⁺濃度およびTFPB⁻濃度を、また[val]_mは膜内におけるバリノマイシン濃度を示している。

さて、Kex₁、Kex₂は膜溶媒の種類によって決まる抽出定数であるが、ほぼ同じ値である。次に、バリノマイシンは脂溶性が高く、感応膜から試料溶液に溶け出すことがないことから、[val]_mは感応膜におけるバリノマイシンの初濃度(1.9 × 10⁻² M)と等しいと考えられる。また、TFPB⁻も極めて脂溶性が高い陰イオンであることから、Kex₁[val]_mの値はKex₂[TFPB⁻]_aと比べて十分大きいと考えられる。これより、[K⁺]_aに対する(1)式の傾きはほぼ直線になり、つまりセンサーからの蛍光強度はd-AO⁺初濃度を切片とし、K⁺イオン濃度に対して直線的に減少する。これは得られた実験結果とよく一致しており、センサー応答はこのような応答機構に基づくものと考えられる。

3. 新規蛍光プローブを用いた光ファイバーカリウムイオンセンサー

3.1 実験

3.1.1 ヘキサデシルアクリジンオレンジの合成

前節で用いたd-AO⁺は、アルキル鎖がさほど長くないため感応膜への脂溶性が低く、感応膜からd-AO⁺が溶出して安定なセンサー応答が得られなかった。そこで、さらにアルキル鎖の長い蛍光プローブを合成し、これによりセンサー応答の安定化を試みた。ヘキサデシルアクリジンオレンジ(h-AO⁺Br⁻)の合成法をFig.7に示す。まず、約5gのアクリジンオレンジを300mlの蒸留水に溶解し、これに1.5MのNaOH水溶液を50ml加えて、生じた沈澱をろ過し、残渣を0.75MのNaOH水溶液で洗浄した。これを少量の蒸留水で洗い、風乾して2.5gのアクリジンオレンジベースを得た。次に、アクリジンオレンジベース2.5gと臭化セチル25mlをトルエン50mlに溶解し、120℃で12時間還流した。冷却後、沈澱をろ過し、残渣をエタノールに溶解した。これを、活性アルミナ充填カラムにより分離し、粗精製のh-AO⁺Br⁻を得た。得られたh-AO⁺Br⁻をエチルエーテルとエタノールの混合溶媒か

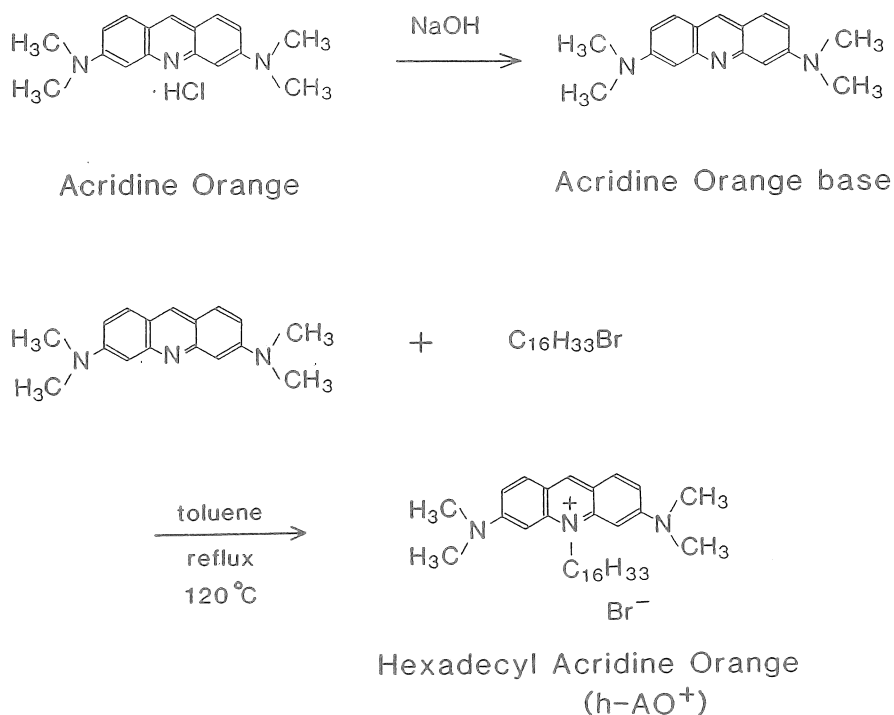


Fig.7 Synthesis of hexadecyl-acridine orange

ら再結晶し、精製h-AO⁺Br⁻を 580 mg得た。収率は12 %であった。得られたh-AO⁺Br⁻についてプロトンNMRを測定し、ピーク位置及びその積分強度より、生成物をh-AO⁺Br⁻(分子量 571)と同定した。次に、h-AO⁺Br⁻の励起、蛍光スペクトルを測定し、極性の低い溶媒中で強い蛍光を発する疎水性蛍光プローブとして有用であることを確かめた。

3.1.2 カリウムイオン感応膜

まず、バリノマイシン 10 mg、Na⁺TFPB⁻ 1 mg、ジブチルセバシン酸 0.5 g、及びPVC 0.2 gをTHF 50 mlに溶解した。この溶液に光ファイバーの先端を浸して引き上げ、THFを揮散させて可塑化PVC膜を作製した。次に、この可塑化PVC膜を2 x 10⁻⁵ Mのh-AO⁺Br⁻水溶液に10秒浸し、h-AO⁺を固定して感応膜とした。得られた感応膜の膜厚は2 μmであった。実験装置はFig.2に示すカリウムイオンセンサーと同じである。

3.2 結果及び考察

3.2.1 センサー応答

試作したセンサーの応答をFig.8に示す。このように、0.5~50 mMのK⁺イオン濃度変化に対して可逆的に応答し、その検出下限濃度は 50 μM、応答時間は30秒と迅速であった。また、K⁺イオンに対するNa⁺イオンの選択係数は4 x 10⁻³で、イオン選択性電極に匹敵す

る選択性が得られた。これより、海水中の K^+ イオン計測において Na^+ イオンは4%以下の測定誤差を与え、 Na^+ イオンの妨害をほとんど受けることなく選択的に K^+ イオンを計測できると考えられた。また、試作センサーでは、 $d-A0^+$ を用いたセンサーのような応答信号の経時的な減少は観測されず、安定な応答が得られた。

これは、ドデシル基と比較してヘキサデシル基の脂溶性が高く、蛍光プローブの試料溶液への溶出がないためと考えられる。

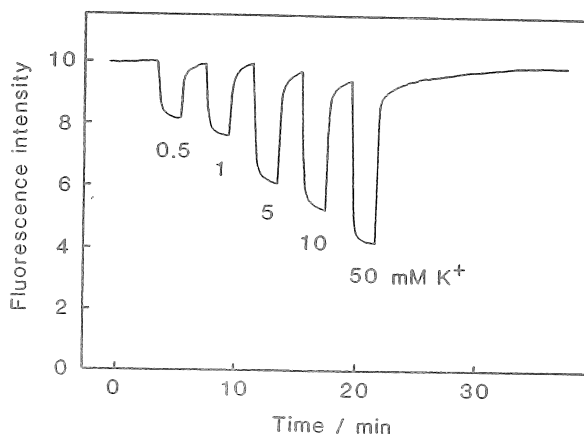


Fig.8 Response curve of fiber-optic potassium ion sensor

3.2.2 実試料におけるカリウムイオン計測

実試料として海水などを採取し、試作センサーによるカリウムイオン濃度の計測を行った。用いた試料は、海水(福岡市志賀島)、河川水((1)福岡市多々良川河口、(2)同宇美川河口、及び(3)福岡県星野川上流)である。それぞれの試料における K^+ イオン濃度は、海水2 mM, 河川水(1)約0.1 mM, (2)4 mM, 及び(3)約0.05 mMとなり、これらは既に報告されている自然水中の K^+ イオン濃度とほぼ等しく、共存イオンによる大きな妨害を受けることなく K^+ イオンの計測が可能であった。

3.2.3 アンモニウムイオン及びカルシウムイオンセンサーの開発

本法においてイオノフォアを選択することにより、種々のイオン選択性の光ファイバー化学センサーが開発できることを実証するため、 NH_4^+ や Ca^{2+} イオンのイオノフォアであるポリナクチンやETH1001を用いてセンサーを試作した。まず、 NH_4^+ センサーはFig.9に示すように、 $10^{-4} \sim 10^{-1}$ Mの NH_4^+ イオン濃度に対して可逆的に応答し、その検出下限濃度は 2×10^{-5} M、応答時間は30秒と迅速であった。次に、0.1 M NaCl及び0.01 M KClについてのセンサー応答を測定し、この応答に相当する NH_4^+ イオン濃度とアルカリ金属イオンの濃度との比から選択係数を求めた。得られた結果をTable 1に示す。比較のために、イオノフォア含有可塑性PVC膜を用いたイオン選択性電極における選択係数も示す。このように、試作センサーはイオン選択性電極に匹敵する選択係数を有しており、電極法同様、優れたアンモニウムイオン選択性を示した。

次に、ポリナクチンにかえてETH1001をイオノフォアとした Ca^{2+} イオンセンサーを試作

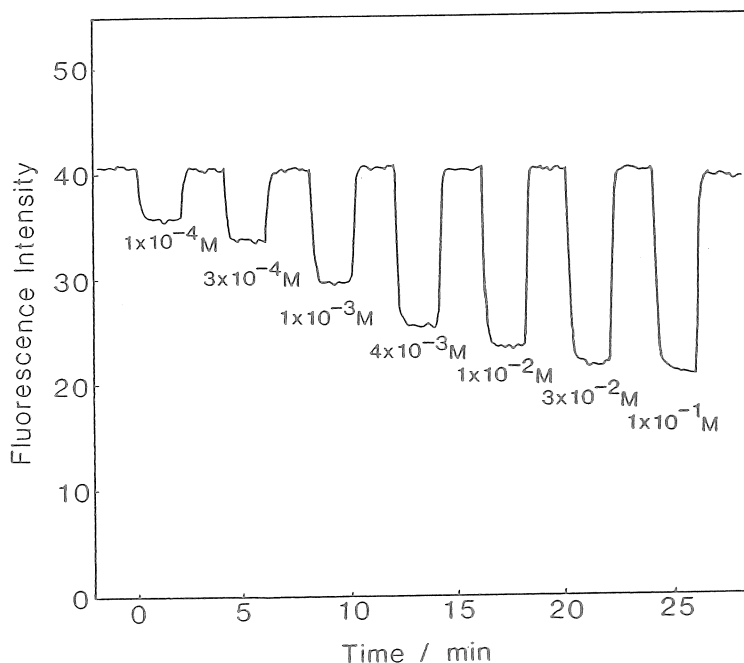


Fig.9 Response curve of fiber-optic ammonium ion sensor

Table 1 Selectivity coefficients of NH_4^+ sensors for Na^+ and K^+

ion	electrochemical		optical	
	Ammann et. al ¹⁾	Degawa et. al ²⁾	Seiler et. al ³⁾	this work
Na^+	1.3×10^{-3}	4.4×10^{-3}	2.0×10^{-3}	5.0×10^{-4}
K^+	1.6×10^{-1}	3.3×10^{-1}	6.3×10^{-2}	3.3×10^{-1}

- 1) D. Ammann, W. E. Morf, P. Anker, P. C. Meier, E. Pretsch and W. Simon, Ion-Sel. Electrode Rev., 5, 3(1983).
- 2) H. Degawa, N. Sinozuka and S. Hayano, Nihon-kagakukaishi, 10, 1462 (1980).
- 3) K. Seiler, W. E. Morf, B. Rusterholz and W. Simon, Anal. Sci., 5, 557(1989).

した。センサーは、 $10^{-6} \sim 10^{-1}$ Mの Ca^{2+} イオンに迅速かつ可逆的に応答し、 K^+ や Na^+ イオンについての選択係数もそれぞれ $10^{-4.8}$; $10^{-4.7}$ と高い Ca^{2+} イオン選択性が得られた。海水中には多量に Na^+ イオンが存在しているが、 Na^+ イオンによる Ca^{2+} イオンの測定誤差は0.02%と極めて小さく、実用性能にも優れていると考えられた。

3.2.4 陰イオンの妨害

Fig.9の NH_4^+ センサー応答は Cl^- を対アニオンとして得られた結果であるが、 Cl^- を SCN^- に変えて得られた検量線をFig.10に示す。このように、対アニオンをかさ高い SCN^- にすると、応答信号の偏移が観測され、 $\text{NH}_4\text{Cl} = 0$ Mのときよりも大きな蛍光強度が得られることなどから、陰イオンについての応答はFig.11に示すような機構に基づくものと考えられる。すなわち、試作センサーでは高い選択性を得るために感応膜内のTFPB $^-$ 濃度を低くしており、このため膜における陰イオン排除能も低下し、かさ高い陰イオンは容易に膜内に抽出される。ここで、膜内の h-AO^+ はその発色団の一部が試料溶液側に移動しており、かさ高い陰イオンと h-AO^+ の発色団とのイオン対が感応膜へ抽出される。このイオン対抽出に伴い発色団周囲の極性が低下し、感応膜からの蛍光強度が増加するものと考えられる。従って、陰イオンの妨害を低減するにはアニオン排除剤であるTFPB $^-$

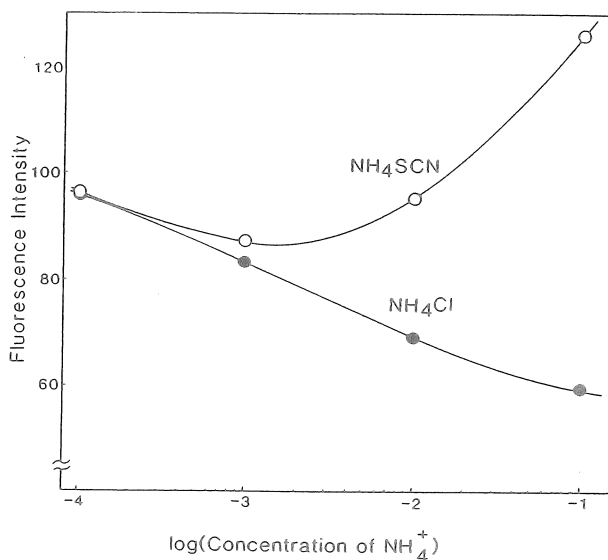


Fig.10 Interference of anion to sensor response

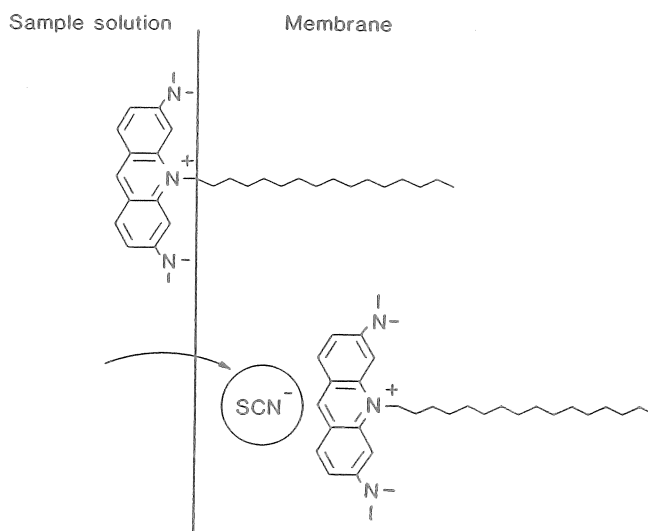


Fig.11 Response mechanism to anion

濃度を増加させればよいが、TFPB⁻濃度増加に伴い、NH₄⁺に対するセンサーの選択性も低下するものと考えられる。

4. 今後の課題

イオノフォアを含む可塑化ポリ塩化ビニル膜と疎水性蛍光プローブを用いた光ファイバー化学センサーを試作し、これによりカリウムイオンなどの陽イオンを高感度かつ選択的に計測できることを明らかにした。また、実試料についても検討を行い、試作センサーが実用性能にも優れていることを示した。しかし、新規に合成したヘキサデシルアクリジンオレンジにおいても、試料溶液への蛍光プローブの溶出がわずかに観測され、センサーの寿命において問題点があった。従って、実用化のためにはセンサー応答の長期的安定性を改善する必要がある。疎水性蛍光プローブを高分子に化学的に固定し、これを感応膜材料とする方法は、蛍光プローブの溶出がなく、使用寿命の長いセンサーが開発できるものと考えられ、今後の課題として挙げられる。また、海水濃縮工程においては、測定対象及び妨害となる金属イオンの濃度が高くなるため、このような試料についてのセンサーの測定域や選択性についてさらに検討を行う必要がある。

参考文献

1. "Fiber-optic potassium ion sensor using alkyl-acridine orange in plasticized poly(vinyl chloride) membrane", Y. Kawabata, R. Tahara, T. Kamichika, T. Imasaka, N. Ishibashi, *Anal. Chem.*, **62**, 1528 (1990).
2. "Ion-selective optrode using hexadecyl-acridine orange attached on poly(vinyl chloride) membrane", Y. Kawabata, T. Kamichika, T. Imasaka, N. Ishibashi, *Anal. Chem.*, **62**, 2054 (1990).
3. "Kinetic spectrophotometric determination of tetraphenylporphine cobalt(II) based on photochromism of immobilized norbornadiene", Y. Kawabata, H. Kumoyama, T. Imasaka, N. Ishibashi, *Anal. Chim. Acta*, **243**, 97 (1990).
4. "Fluorimetric determination of potassium ion by flow-through cell using hexadecyl-acridine orange immobilized on poly(vinyl chloride) membrane", *Anal. Chim. Acta*, submitted.

Fiber-Optic Chemical Sensor for Metal Ions and its
Application to Seawater IndustriesNobuhiko Ishibashi, Yuji Kawabata, and Totaro Imasaka
Faculty of Engineering, Kyushu University

Alkali and alkaline-earth metal ions in seawater are useful resources for chemical industries. Optical measurement of these ions through an optical fiber has several advantages over an electrochemical detection of ions. In this study, a fluorescent reagent sensitive to hydrophobicity around the reagent molecule is immobilized on a poly(vinyl chloride) (PVC) membrane, and it is used as an ion-sensing membrane in the fiber-optic chemical sensor. The constructed sensor is applied to real samples, and performances of the sensor are discussed.

Potassium Ion Sensor. Valinomycin was used as an ionophore for potassium ion. Dodecyl-acridine orange (dodecyl-AO⁺) was immobilized on the PVC membrane containing valinomycin, and it was attached on a distal end of an optical fiber. An argon-ion laser was introduced into the optical fiber as an exciting source, and fluorescence from the membrane was detected through the optical fiber. The sensor response was reversible to the potassium ion concentrations in the 0 ~ 100 mM range.

Response Mechanism. Potassium ion in a sample solution was extracted into a PVC membrane by valinomycin selectively. Positively charged dodecyl-AO⁺ in the PVC membrane was ion-exchanged with potassium ion, and moved toward the sample solution concomitantly. This movement lowered hydrophobicity around dodecyl-AO⁺. A fluorescence intensity of dodecyl-AO⁺ was well known to decrease with decrease of hydrophobicity around dodecyl-AO⁺. Thus the sensor signal decreased with increase of the potassium ion concentration in the sample solution.

Hexadecyl-AO⁺. The more lipophilic probe of hexadecyl-AO⁺ was synthesized. The response of the sensor using hexadecyl-AO⁺ was quite stable compared with that using dodecyl-AO⁺. Potassium ion in seawater was determined by the sensor, and the concentration of potassium ion was ca. 2 mM. Ionophores for ammonium and calcium ions were used instead of valinomycin, and fiber-optic sensors highly selective to these ions were also developed.