

9201 イオン認識素子カリックスアレンを利用した新しい光ファイバー化学センサ 開発とアルカリ金属イオンの高選択的計測

助成研究者:川畑 祐司(九州大学 工学部)

1. 本研究では、カリックスアレンをイオン認識素子とした光学的な化学センサを開発し、これによりアルカリ金属イオンを連続的かつ選択的に計測することを目的とした。

2. はじめに、ナトリウムイオン及びセシウムイオンの認識素子であるカリックス[4]アレン及びカリックス[6]アレンのエトキシカルボニルメチルエステル誘導体を合成した。次に、合成したカリックスアレン誘導体、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た。この混合溶液に光ファイバーの先端を浸漬し、テトラヒドロフランを揮散させて可塑化ポリ塩化ビニル膜を作製した。この膜をヘキサデシルアクリジンオレンジ(蛍光プローブ)水溶液に浸して、膜に蛍光プローブを固定し、光学的な感応膜を作製した。光ファイバーを通してアルゴンイオンレーザー光を感応膜に照射し、膜からの蛍光強度は同じ光ファイバーを通して光電子増倍管-ロックインアンプにより測定した。

3. カリックスアレン誘導体 カリックスアレン水酸基のエトキシカルボニルメチルエステル化はプロトンNMRにより確認した。カリックス[4]アレン誘導体については4置換体の十分な収量が得られなかったため、カリックス[6]アレン誘導体を用いたセシウムイオンの光学的な計測について主に検討を行なった。

センサ応答 カリックス[6]アレン誘導体をイオノフォアとしたセンサは $10^3 \sim 10^1$ Mのセシウムイオンに対して可逆的に応答し、その検出下限濃度は 5×10^{-4} M、応答時間は35秒であった。カリックス[6]アレン誘導体を含まない感応膜はセシウムイオンに対してほとんど応答しないことから、カリックス[6]アレン誘導体が大きなイオン抽出能を有していることを確かめた。また、用いた蛍光プローブは疎水性が高いため感応膜から試料溶液へ溶出することはなく、センサからの蛍光強度の経時的な変化は観測されず、安定性に優れたセンサであることが推察された。

選択性 10^1 Mのナトリウムイオン、カリウムイオン、及びセシウムイオンに対するセンサ応答を測定し、選択性について検討を行なった。その結果、セシウムイオンに対するナトリウムイオン及びカリウムイオンの選択係数はそれぞれ 1.2×10^3 及び0.24となり、同様なカリックス[6]アレン誘導体を用いた電気化学的センサに匹敵する高いセシウムイオン選択性が得られた。以上のように、新しいイオン認識素子であるカリックスアレンを用いて、アルカリ金属イオンを選択的に計測できることを明らかにした。

9201 イオン認識素子カリックスアレンを利用した新しい光ファイバー化学センサ 開発とアルカリ金属イオンの高選択的計測

助成研究者:川畑 祐司(九州大学 工学部)

1. 研究目的

近年、測定対象の化学種に対して光学的に応答する感応膜を用いた化学計測法が活発に研究されている¹⁾。なかでも、光ファイバーの先端にこの感応膜を取り付け、光ファイバーを通して化学種を光学的に計測する光ファイバー化学センサは、電気化学的センサとは異なる特徴をもつ新しい化学計測法として飛躍的に発展しており、工業プロセス計測や生体内計測など広い分野における応用が期待されている²⁻⁴⁾。

私共はこれまでに、新しい応答機構に基づく感度・選択性に優れた光ファイバー化学センサを創案し、本法がイオン認識素子を含む電気化学的感応膜を光学的な感応膜とする一般的な手法となることを実証するとともに、これにより種々の高性能なイオンセンサを開発している⁵⁾。このセンサの選択性はイオン認識素子の認識能によって決まり、これまでバリノマイシンなどを用いて比較的高い選択性が得られているが、必ずしも十分とは言い難い。近年、カリックスアレンと呼ばれるイオン認識素子が開発され、これを用いた電気化学的センサは選択性や測定濃度域などにおいて従来のセンサよりも格段に優れた性能を有することが示されている⁶⁻⁸⁾。そこで本研究では、このカリックスアレンをイオン認識素子とする高選択的な光ファイバー化学センサを開発するとともに、これによりアルカリ金属イオンの計測を行なうことを目的とする。

2. 研究方法

2. 1 イオン認識素子カリックスアレン

2. 1. 1 カリックスアレンの合成

カリックスアレンはフェノールとホルムアルデヒドとの縮合反応による環状のオリゴマーである。カリックスアレンが高いイオン認識能をもつのは^{9, 10)}、

- ・ 4量体から8量体まで空孔径の異なるカリックスアレンがあり、その空孔径にあうイオンがカリックスアレン分子内に選択的に包接される
- ・ カリックスアレンの構造単位であるフェノール骨格に水酸基をもち、水酸基内の酸素原子が空孔のまわりに環状に配置され、その非共有原子対が特定のイオンの包接構造を安定化する
- ・ フェノール骨格の水酸基内水素を種々の官能基に置換して、イオンを認識するため

の新しい機能を空孔周囲に付与することができるなどの理由による。そこで、ナトリウムイオンおよびセシウムイオンのイオン径に相当する空孔をもつカリックス[4]アレン及びカリックス[6]アレンを選び、そのフェノール水酸基の水素をエトキシカルボニルメチルエステル化して、アルカリ金属イオンと安定な包接構造をつくるカリックスアレン誘導体を合成した。

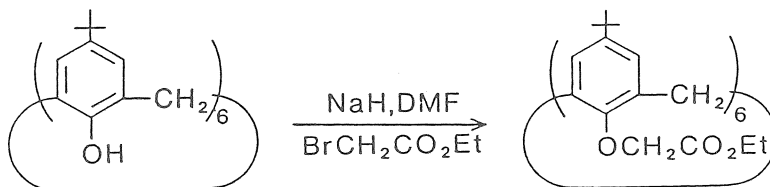


Fig. 1 Synthesis of calix[6]arene ester

Fig. 1 に p-t-ブチルカリックス[6]アレンエトキシカルボニルメチルエステル誘導体の合成スキームを示す¹¹⁾。窒素気流下において、p-t-ブチルカリックス[6]アレン(1 mmol)を無水ジメチルホルムアミド(20 ml)に溶解し、これに水素化ナトリウム(4 mmol)を加えた。この混合物にプロモ酢酸エチル(5 mmol)を加えて、80℃で約2時間加熱攪拌した後、室温まで冷却した。次に、ジメチルホルムアミドを減圧除去し、得られた残留物を蒸留水で洗浄した。さらに、その残留物をクロロホルムに抽出した後、クロロホルムを減圧除去し、カリックス[6]アレン誘導体の粗生成物を得た。この粗生成物をカラムクロマトグラフィー(充填剤：活性アルミナ、溶離液：ジクロロメタンとメタノールの混合溶媒)により分離、精製した。

カリックス[4]アレンエトキシカルボニルメチルエステル誘導体も同様にして合成を行なった。しかしながら、4個の水酸基のエステル化が十分に起こらず、また収量もわずかであったので、主にカリックス[6]アレンについて検討を行なった。

2. 1. 2 NMRスペクトル及び融点測定

合成したカリックス[6]アレン誘導体について、そのNMRスペクトル及び融点の測定を行い、文献値と比較した¹²⁾。p-t-カリックス[6]アレン及びカリックス[6]アレン誘導体の¹H-NMRスペクトル(溶媒：CDCl₃, 内部標準：TMS)をFig. 2-(a)及びFig. 2-(b)に示す。カリックスアレン誘導体については文献値とほぼ同じスペクトルが得られ、エステル誘導体の生成が確認された。また、反応の前後においてフェノール水酸基のプロトンのピーク($\delta=10.4$)が消失していることから、フェノール水酸基の水素が全てエトキシカルボニルメチルエステル化されていることも確認できた。

次に、カリックスアレン誘導体の融点を微量融点測定装置を用いて測定した。なお、融点は化合物の半分が融解した温度とした。その結果、合成したカリックスアレン誘導

体の融点は185~190°Cであり、文献値(252~255°C)よりも低い値となった。合成に用いた水素化ナトリウムには試薬安定剤としてパラフィンが含まれており、これが不純物となって融点が低下したものと考えられる。しかしながら、パラフィンはカリックスアレン誘導体のイオン認識能に影響を与えることはないと考えられたので、これ以上の精製操作は行なわず、生成物をイオン認識素子として用いた。

2. 2 電気化学的センサの開発

2. 2. 1 電気化学的感応膜の作

製

はじめに合成したカリックス[6]アレン誘導体のイオン認識能を確認するため、これを含む電気化学的な感応膜を作製し、その応答性について検討を行なった。まず、カリックス[6]アレン誘導体(7.2 mg)及びテトラキス-[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 , 2.0 mg)を可塑剤であるセバシン酸ジ-2-エチルヘキシル(DOS, 0.2 g)に溶解した。この溶液にテトラヒドロフラン(THF, 2 ml)及びポリ塩化ビニル(PVC, 80 mg)を加え、攪拌しながら溶解した。この溶液をシャーレ(直径40 mm)に注ぎ、一昼夜放置しTHFを揮散させて、可塑化PVC膜を作製した。得られた可塑化PVC膜の膜厚は約0.5 mmであった。この可塑化PVC膜を切り取り、これを電極先端に取り付けた。

2. 2. 2 電気化学的センサの実験装置

電気化学的センサにおける電位測定のための実験装置をFig. 3に示す。参照電極にはダブルジャンクション型塩素イオン電極(内筒液: 3 M 塩化カリウム、外

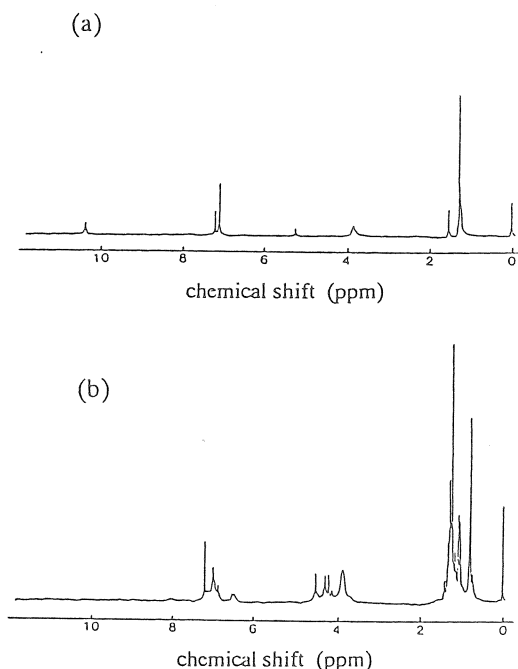


Fig. 2 Proton-NMR spectra of calixarene derivatives

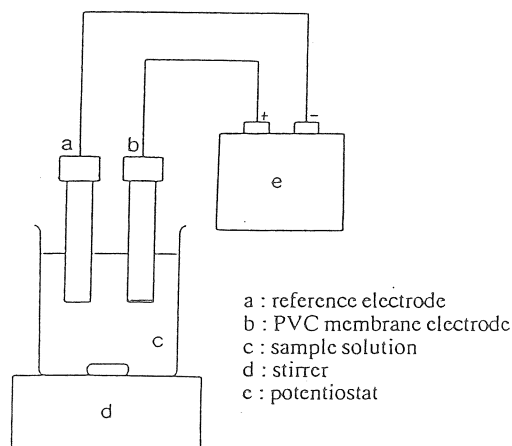


Fig. 3 Experimental apparatus for electrochemical sensor

筒液：1 M 酢酸リチウム)を用い、電位差計によりその膜電位を測定した。試料には、 10^3 M 及び 10^2 M の塩化ナトリウム、塩化カリウム及び塩化セシウム水溶液を用い、膜電位が安定するまで約2分毎に電位を計測した。

2. 3 光ファイバーセンサの開発

2. 3. 1 光ファイバーセンサの感応膜作製

合成したカリックス[6]アレン誘導体(10 mg)及び Na^+TFPB (1.0 mg)を可塑剤であるDOS(0.5 g)に溶解した。この溶液にTHF(40 ml)及びPVC(0.2 g)を加えて、攪拌しながら溶解した。この混合溶液に光ファイバーの先端を浸漬し、引き上げた後、THFを揮散させて可塑化PVC膜を作製した。膜厚は数 $10\mu\text{m}$ であった。次に、作製した可塑化PVC膜を蛍光プローブであるヘキサデシルアクリジンオレンジ(h-AO⁺)の水溶液に浸漬し、ナトリウムイオンとのイオン交換により膜に蛍光プローブを固定し、これを感応膜とした。

2. 3. 2 光ファイバーセンサの実験装置

光ファイバーセンサの実験装置をFig. 4に示す。励起光源にはアルゴンイオンレーザー(発振波長 488 nm、出力 $150\mu\text{W}$)を用い、これをチョッパーで 100 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考信号とした。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 $800\mu\text{m}$ 、クラッド径 $1000\mu\text{m}$)に入射した。また、光ファイバーの先端には前述のように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、レンズ2によりモノクロメーターのスリット

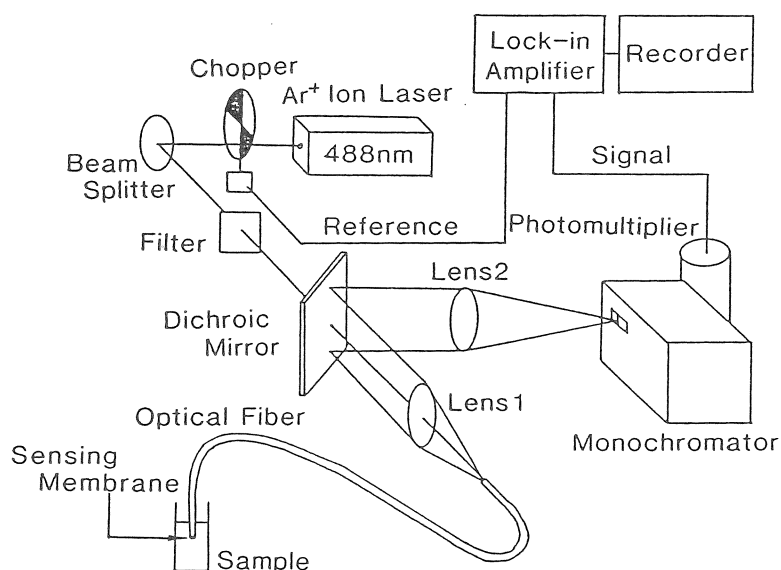


Fig. 4 Experimental apparatus for optical sensor

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522 nmにおける蛍光強度を光電子増倍管-ロックインアンプにより測定した。

3. 研究結果及び考察

3. 1 電気化学的センサの応答性

3. 1. 1 電気化学的センサのセシウムイオン応答性

ナトリウム、カリウム、及びセシウムイオンについて得られた検量線をFig. 5に示す。カリックス[6]アレン誘導体を含む感応膜はいずれのアルカリ金属イオンに対しても応答を示した。得られた膜電位はセシウムイオンに対してネルンスト応答を示したが、ナトリウム及びカリウムイオンについてはネルンスト応答よりもわずかに小さな傾きとなった。これは、ナトリウム及びカリウムイオンについては測定時間内に膜電位が平衡に達していないためと考えられる。安定な膜電位が得られるまでの時間は、セシウムイオンについては数分と短時間であったが、ナトリウム及びカリウムイオンでは10分以上を要した。ナトリウム及びカリウムイオンではカリックス[6]アレン誘導体との錯体の安定性が小さく、錯体の形成及び錯体の膜への抽出がセシウムイオンと比較して遅いため、抽出平衡に到達するまでに長時間を要すると考えられた。

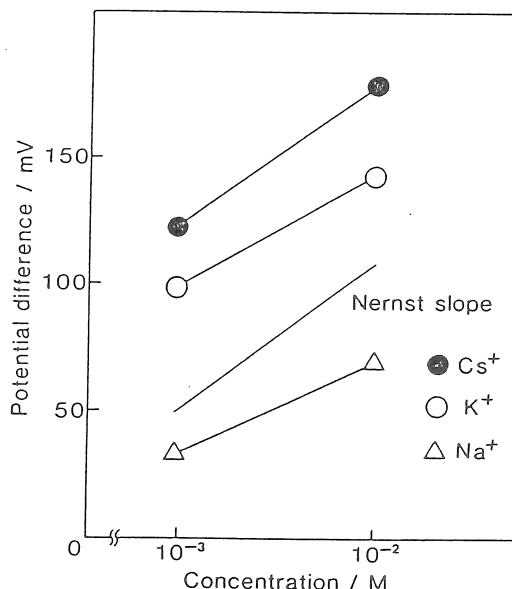


Fig. 5 Response of electrochemical sensor

3. 1. 1 電気化学的センサのセシウムイオン選択性

単独溶液法により、それぞれのアルカリ金属イオンの選択係数を求めた。得られた選択係数をTable. 1に示す。これより、合成したカリックス[6]アレン誘導体を含む電気化学的感応膜は、ナトリウムイオンより72倍、カリウムイオンより4倍、セシウムイオンに対して選択性を有していることがわかる。

Table 1 Selectivity coefficients for alkali metal ions

ion	Selectivity coefficient	
	electrochemical	optical
Na ⁺	1.4 x 10 ⁻²	1.2 x 10 ⁻³
K ⁺	0.25	0.24
Cs ⁺	1.0	1.0

3.2 光学的センサの応答性

3.2.1 光学的センサのセシウムイオン応答性

試作したセンサは $10^2 \sim 10^1$ Mのセシウムイオンに対して可逆的に応答したが、電気化学的センサと比較すると検出感度はさほど高くなかった。これは、膜内のカリックスアレン濃度が低く、セシウムイオンの膜への抽出量が少ないためと考えられた。そこで、膜内のカリックスア

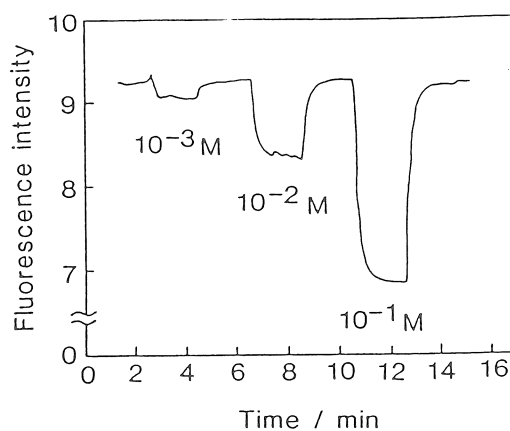


Fig. 6 Response of optical sensor to cesium ion

レンを4倍量とした感応膜を作製し、このセンサのセシウムイオンに対する応答を測定した。得られたセンサ応答をFig. 6に示す。 $10^3 \sim 10^1$ Mのセシウムイオンに対して可逆的な応答が得られ、その検出下限濃度は 5×10^4 M、応答時間は35秒であった。

一般にセシウムイオンはそのイオン径が大きいため、イオノフォアが存在しなくてもわずかに膜への抽出が起こる。また、エステル化していないカリックス[6]アレンもその空孔径がセシウムイオンと適合するため、原料のカリックス[6]アレンがイオノフォアとして機能していることも考えられ、これによりセンサ応答が観測される可能性がある。そこで、カリックス[6]アレンのエステル誘導体がセシウムイオンのイオノフォアとして機能していることを確かめるために、原料カリックス[6]アレンを含む感応膜を作製し、セシウムイオンの計測を行なった。その結果、センサは 10^1 Mのセシウムイオンに対してもほとんど応答を示さず、試作したセンサのセシウムイオン選択性がカリックス[6]アレンのエステル誘導体により得られることを確認した。

Fig. 7に試作したセンサの応答機構を示す。試料溶液中のセシウムイオンはカリックス[6]アレン誘導体によって膜内に選択的に抽出される。このとき正電荷を有する蛍光プローブはイオン交換により膜内から試料溶液側へと移動する。このイオン交換により、蛍光プローブ周囲の極性が増大する。用いた蛍光プローブは分子周囲の極性変化に対して蛍光強度が変化する、いわゆる疎水性蛍光プローブと呼ばれるものである。従って、セシウムイオンの抽出に伴い、感応膜からの蛍

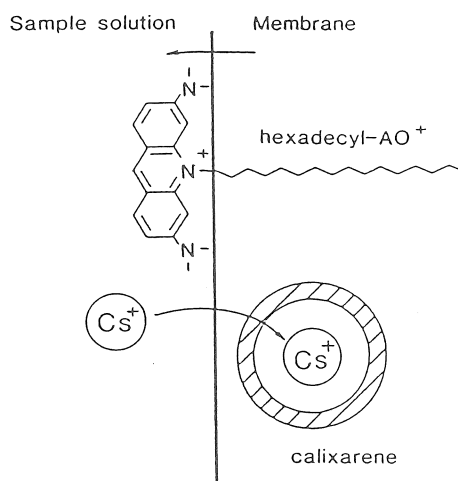


Fig. 7 Response mechanism of optical sensor

光強度は減少し、センサ応答が得られる。また、この蛍光プローブは分子内に長鎖アルキル基を有しており、この長鎖アルキル基を膜内に残したまま、発色団のみが膜内から水相へ移動する。このため、蛍光プローブは感応膜から溶出することなく、可逆的なセンサー応答が得られる。

3. 2. 2 光学的センサのセシウムイオン選択性

ナトリウム、カリウム、及びセシウムイオンについてセンサ応答を測定し、これより、試作センサのセシウムイオン選択性について検討を行なった。得られたセンサ応答をFig. 8に示す。これより、セシウムイオンに対するナトリウム及びカリウムイオンの選択係数はそれぞれ 1.2×10^3 、0.24となり、電気化学的センサと同様な選択係数 (Table 1 参照) が得られた。一方、

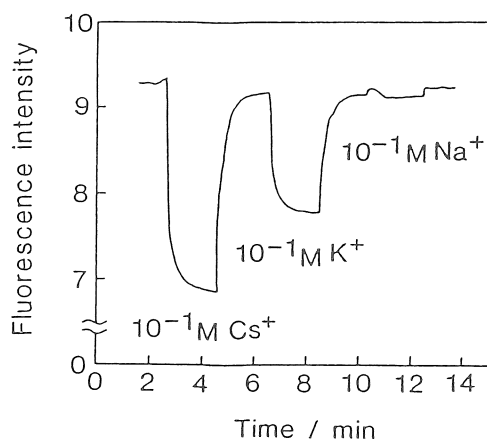


Fig. 8 Response of optical sensor

同じカリックス[6]アレン誘導体を用いたイオン選択性電極では、ナトリウム及びカリウムイオンについて 2.0×10^4 、 3.2×10^3 の選択係数が報告されており⁹⁾、本研究の結果より優れた選択性が得られている。これは、主にカリックス[6]アレン誘導体のエステル化度の違いに起因するものと考えられる。すなわち、本研究において合成したカリックスアレン誘導体は1～6置換エステル体の混合物であり、低エステル化度のカリックスアレン誘導体によりナトリウムやカリウムイオンが非特異的に抽出されるため選択性が低下したものと考えられる。

4. 今後の課題

本研究では、カリックスアレン誘導体をイオン認識素子とするアルカリ金属イオンセンサの開発を試みた。その結果、光学的センサにおいてもカリックスアレン誘導体は優れたイオン認識素子となり、アルカリ金属イオンに選択的なセンサが構築できることを明らかにした。

まず、カリックス[6]アレン誘導体を用いた光学的センサでは、 $10^3 \sim 10^1$ Mのセシウムイオンに対して可逆的に応答した。しかし、同様なカリックスアレン誘導体を用いた電気化学的センサと比較すると検出下限濃度は1桁程度劣っており、センサ感度の向上が望まれる。このためには、目的とするアルカリ金属イオンとの錯形成定数がさらに大きなカリックスアレン誘導体を分子設計・新規合成する必要がある。また、試作したセンサはカリウムイオンに対して比較的大きな妨害応答を示し、カリウムイオンのイオン

イオン径がセシウムイオンに近いこと、カリウムイオンが膜内のエステル化度が低いカリックスアレン誘導体と錯形成するものと推察された。従って、カリックスアレン誘導体の合成方法や精製方法を検討し、水酸基水素が全てエステル化したカリックスアレン誘導体を用いることにより、光学的センサにおいても電気化学的センサに匹敵する選択性が得られると考えられる。

さらに、本研究では合成が困難であったカリックス[4]アレン誘導体についても再検討の必要がある。すなわち、カリックス[4]アレン誘導体は工業的あるいは臨床化学的に極めて重要であるナトリウムイオンの認識素子であり、これを用いた光ファイバーセンサの開発は実用上極めて大きな意味をもつものと考えられる。従って、カリックス[4]アレン誘導体の合成方法を検討し、これをイオン認識素子としたナトリウムイオンセンサの開発も今後の課題として挙げられる。

4. 参考文献

- (1) Collison, M. E.; Meyerhoff, M. E. *Anal. Chem.* 1990, 62, 425A-437A.
- (2) He, H.; Li, H.; Mohr, G.; Kovacs, B.; Werner, T.; Wolfbeis, O. S. *Anal. Chem.* 1993, 65, 123-127.
- (3) Seiler, K.; Simon, W. *Anal. Chim. Acta* 1992, 266, 73-87.
- (4) Suzuki, K.; Ohzora, H.; Tohda, K.; Miyazaki, K.; Watanabe, K.; Inoue, H.; Shirai, T. *Anal. Chim. Acta* 1990, 237, 155-164.
- (5) Kawabata, Y.; Kamichika, T.; Imasaka, T.; Ishibashi, N. *Anal. Chem.* 1990, 62, 2054-2055.
- (6) Forster, R. J.; Cadogan, A.; Diaz, M. T.; Diamond, D.; Harris, S. J.; Mckervey, M. A. *Sens. Actuators* 1991, 4, 325-331.
- (7) Tanaka, M.; Kobayashi, T.; Yamashoji, Y.; Shibutani, Y.; Yakabe, K.; Shono, T. *Anal. Sci.* 1991, 7, 817-818.
- (8) Kimura, K.; Matsuba, T.; Tsujimura, Y.; Yokoyama, M. *Anal. Chem.* 1992, 64, 2508-2511.
- (9) Izatt, S. R.; Hawkins, R. T.; Christensen, J. J.; Izatt, R. M. *J. Am. Chem. Soc.* 1985, 107, 63-66.
- (10) Chang, S.; Kwon, S.; Cho, I. *Chem. Lett.* 1987, 947-948.
- (11) Chang, S.; Cho, I. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* 1986, 211-214.
- (12) 八木謙一、第8回分析化学緑陰セミナー講演要旨集(1992)

研究の発表

1. 学会講演

1. Seventh International Symposium on Salt, April, 1992.
"Fiber-optic chemical sensor for potassium and calcium ions based on laser fluorimetry"
2. First European Conference on Optical Chemical Sensors & Biosensors, April, 1992.
"Chemical sensing based on laser fluorimetry"
3. The Second World Congress on Biosensors, May, 1992.
"Fiber-optic urea sensor using ammonium ion selective membrane covered with urease-immobilized membrane"
4. 第53回分析化学討論会、平成4年5月
「アンモニウムイオン感応膜とウレアーゼ固定化膜を用いた光ファイバー尿素センサーのマイクロ化・高感度化」
5. Chemical, Biochemical, and Environmental Fiber Sensors IV, September, 1992.
"Advanced technique in fiber-optic sensor"
6. The Fourth International Meeting on Chemical Sensors, September, 1992.
"Fiber-optic chemical sensor for selective detection of cations"
7. 日本化学会第65春季年会、平成5年3月
「固定化蛍光色素を用いたハロゲンイオンのオプティカルセンシング」

2. 論文発表

1. Analytical Sciences, vol. 8, 1992.
"Contribution of plasticizer to response of surfactant-selective plasticized poly(vinyl chloride) membrane electrode by using ion-selective field-effect transistor"
2. Sensors and Actuators B, vol. 13, 1992.
"Theoretical evaluation of optical response to cation and cationic surfactant for optrode using hexadecyl-acridine orange attached on plasticized poly(vinyl chloride) membrane"
3. Analytical Chemistry, submitted.
"Photoacoustic spectrometry using fiber-optic pressure sensor"
4. Analytica Chimica Acta, submitted.
"Micro-optrode for urea using ammonium ion-sensitive membrane covered with urease-immobilized membrane"

Fiber-Optic Chemical Sensor for Alkali Metal Ion Using Calixarene as Ionophore

Yuji Kawabata

Faculty of Engineering, Kyushu University

Optical measurement of chemical species through an optical fiber has great advantage in remote sensing. Determination of alkali metal ions is a special interest in the industrial and clinical fields. Calixarenes have been reported as a novel ionophore for alkali metal ions in the electrochemical sensors. In this study, a fiber-optic sensor for alkali metal ions is constructed by using these calixarenes, and performance of the sensor is evaluated.

Sensing Membrane. First, a calixarene derivative (p-t-butyl-calix[6]arene ethoxycarbonyl-methyl ester) was synthesized from p-t-butyl-calix[6]arene and bromoacetic acid ethyl ester. This calixarene derivative was well known as an ionophore for cesium ion. Secondly, the calixarene derivative and an ion-exchanger were dissolved in dioctyl sebacate. Succeedingly, tetrahydrofuran and poly(vinyl chloride) were dissolved in the solution. A distal end of an optical fiber was dipped into the mixed solution to form a plasticized poly(vinyl chloride) membrane. Finally, this membrane was immersed into a solution of hexadecyl-acridine orange (fluorescent probe) in order to immobilize the probe on the membrane. An argon-ion laser was introduced into the optical fiber as an exciting source, and fluorescence from the membrane was collected through the same optical fiber.

Sensor Response. A sample solution containing cesium ion was prepared, and the sensor response to cesium ion was investigated. The constructed sensor reversibly responded to cesium ion in the concentration range of 10^{-3} - 10^{-1} M. The detection limit of cesium ion was 5×10^{-4} M, the response time being 35 s. A sensing membrane without containing the calixarene derivative was also prepared. However, the sensor showed no appreciable response to cesium ion. It implied that cesium ion in the sample solution was strongly extracted into the membrane by the calixarene derivative. The fluorescent probe of hexadecyl-acridine orange was highly hydrophobic, and leaching out of the probe from the membrane was not observed. It resulted the stable response of the sensor.

Selectivity. The sensor was applied to the measurement of sodium, potassium, and cesium ions, and the selectivity of the sensor was evaluated. The selectivity coefficients for sodium and potassium ions against cesium ion were 1.2×10^{-3} and 0.24, respectively, and high selectivity to cesium ion was obtained by using the calixarene derivative. These selectivity coefficients were comparable to those of the electrochemical sensors using a similar calixarene derivative.

Calixarenes were useful ionophores for alkali metal ions, and various calixarenes could be designed for selective extraction of metal ions. Thus the fiber-optic sensor with a different selectivity could be easily constructed by using such calixarenes.