

9814 高性能ナトリウム及び塩化物イオン選択性オプトードデバイスの開発

助成研究者：久本 秀明 (慶應義塾大学 理工学部)

【概要】 本研究では高性能なイオン選択性オプトードを開発するために、高機能性色素分子を用いた検出波長可変型イオン選択性オプトードの開発を行い、ナトリウムなどのイオンセンシングへの応用を行った。通常のイオン選択性オプトードは1波長での検出のみが可能であるが、本研究で開発したオプトードは、膜溶媒の極性を制御することによって、色素分子の最大吸収波長を任意の波長にシフトさせることが可能であり、その波長における吸光度変化を利用することによって、イオン対抽出メカニズムを利用したイオンセンシングが可能となる。従来、オプトードの光源として、安価な発光ダイオードやレーザーなどが用いられてきたが、これらの光源は基本的に単色であり、色素の最大吸収波長と光源の発光波長のマッチングが必ずしもよいとは言えなかった。しかし、本研究の方法論を用いることによって、この波長のミスマッチの問題を解決することができ、オプトードの感度を最適化することが可能となる。ここでは、このような検出波長可変型オプトードの応答特性について詳しく検討した。

【実験及び結果】 Fig.1 に用いた試薬の構造を示す。本研究では色素として我々が開発したメロシアニン系色素の KD-M9 及び KD-M11 を用いた。この色素の吸収スペクトルは水酸基を有する溶媒から最も影響を受けやすいため、本研究では *o*-Nitrophenyl Octylether (NPOE) に水酸基を導入した新規な膜溶媒 NPOE-OH を合成し、NPOE と混合することによって、波長制御を行った。まず検出波長可変型オプトードの基礎特性を調べる実験として、色素と脂溶性アニオンのみを含む膜を用いてテトラメチルアンモニウムカチオンの抽出実験を行ったところ、Fig.2 に示すように、KD-M11 では 649~589nm、KD-M9 では 568~540nm の範囲での波長制御が可能であった。これは、Fig.2 に合わせて示したように、種々の LED の発振波長をカバーできるものであった。イオン選択性オプトードの応答原理はイオン対抽出に基づいているため、膜溶媒の組成を変えることによって目的イオンの抽出量が変わり、オプトードの応答範囲も変化する。ここでは、膜溶媒の混合比と波長及びイオン対抽出平衡定数との関係についても議論し、最終的にニュートラルイオンフォアを用いたイオン選択性オプトードデバイスへの応用も行った。

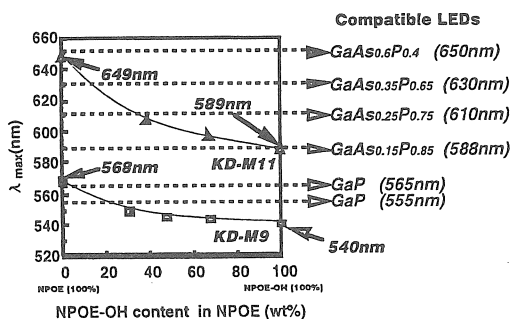
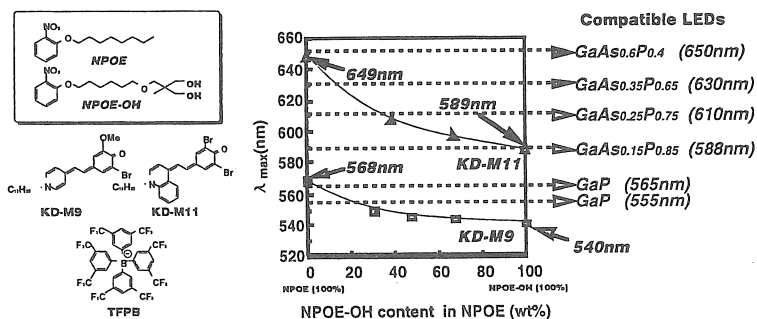


Fig.1 Chemical structures of membrane components. Fig.2 Variation of the λ_{max} values of optode membranes with varying the composition of membrane solvents.

Here compatible LEDs were also shown.

(参考文献) (1) H. Hisamoto et al. Anal. Chim. Acta 1998, 373, 271-289. (2) H. Hisamoto et al. Anal. Chem. 1998, 70, 1255-1261. (3) H. Hisamoto et al. Anal. Chem. 1999, 71, 259-264.

9814 高性能ナトリウム及び塩化物イオン選択性オプトードデバイスの開発

助成研究者：久本 秀明 (慶應義塾大学 理工学部)

1：研究の目的と概要

イオン選択性オプトードデバイスは、高感度・高選択的にイオン濃度を検出できるデバイスであり、従来型のイオン選択性電極法に変わりうる方法として、注目を集めている。¹⁻⁴ この方法論は現在様々なデバイス応用が検討されており、将来実用が期待される方法論の一つである。⁵⁻¹³

本研究ではナトリウムや塩化物イオンなど、様々なイオンが検出できる、より高性能なイオン選択性オプトードの開発を目指し、その検出波長を制御できるタイプの新規なイオン選択性オプトードの開発を行い、ナトリウムなどのイオンセンシングへの応用を行った。

イオン選択性オプトード開発のプロセスにおいては、検出信号を光情報に変換する機能性色素分子が非常に重要な役割を果たしている。¹⁴⁻¹⁹ よって我々は次世代のオプトードの開発には様々なスペクトル変化を起こしうる色素分子が重要となると考え、複数の変色メカニズムを有し、かつ数多くのセンシング情報を得ることのできる色素分子(高度情報色素分子(Multiinformation Dyes: MIDs))を設計し、オプトードへの応用を検討している。^{20,21} それらの研究において、我々はこの分子がプロトン脱着に基づく吸光度変化だけではなく、極性変化に伴う波長シフトも示すことを見出した。このような色素分子をイオン選択性オプトードに応用することによって、その検出波長を自由自在にコントロールできるタイプのオプトードが開発できると考えた。

検出波長の制御は、2種類の極性の異なる膜溶媒を混合することによって行った。用いた膜材の分子構造を Fig.1 に示す。膜溶媒としては、可塑性 PVC 膜用膜溶媒として汎用される 2-ニトロフェニルオクチルエーテル (NPOE) 及び、その分子に水酸基を導入して極性(水素結合供与性)を高めた NPOE-OH を混合することによって行った。理論的観点からは、この膜材混合の操作は油層の極性変化にも関わってくるため、オプトードの応答範囲が変化する。よって、ここでは膜材混合によるイオン対抽出平衡定数の変化も詳しく調べた。

この基礎的検討ののち、ナトリウムイオンフォア、リチウムイオンフォア、カルシウムイオンフォアを用いてそれぞれのイオンセンサーを試作した。

2：実験方法

2-1 センシングプレートの作製

本研究では可塑化 PVC 膜用の膜溶媒としてよく用いられる o-Nitrophenyl Octylether (NPOE) に水酸基を導入した新規な膜溶媒 NPOE-OH を合成し、NPOE と混合することによって、波長制御を行った。この NPOE-OH は、NPOE と構造が類似しているため、NPOE と混合しても二相に分離してしまうことなく、均一に混合することができる。

また、ニュートラルイオノフォアとしては、Na イオノフォア DD16C5、Ca イオノフォア K23E1、Li イオノフォア TTD14C4、色素としては波長シフト範囲の異なる KD-M9、及び 11 を用いた。この色素はプロトン化によってプラスチャージを帯びることで吸光度変化を起こすため、膜中の電気的中性を保つために脂溶性アニオンとして TFPB を用いた。これらの膜物質を膜溶媒に溶解させ、可塑化 PVC 膜、あるいはシラン化によって疎水性処理を施したすりガラスの表面に塗布し、表面をセルロース膜によってカバーするタイプのセンシングプレートを作製し、分光光度計による測定を行った。

3：結果と検討

3-1 検出波長可変型オプトードの基礎的特性

Fig.2 に検出波長可変型オプトードの設計コンセプトを示す。Fig.2(A)に示すように、今回用いたメロシアニン系 MID は膜溶媒の極性を変化させることによって最大吸収波長がシフトするため、Fig.2(B)に示すように、それぞれの波長における吸光度変化をセンシングシグナルとして利用できる。この際、高極性膜溶媒と低極性膜溶媒を混合するという手法をとることによって、厳密な波長チューニングが可能になる。

まず検出波長可変型オプトードの基礎特性を調べる実験として、色素と脂溶性アニオンのみを含む膜を用いてテトラメチルアンモニウムカチオンの抽出実験を行った。Fig.3 に結果を示す。膜溶媒として NPOE を用いた場合は、649nm であった最大吸収波長が、NPOE-OH に変えることによって、589nm へとシフトすることがわかった。これは、NPOE-OH の持つ水酸基によって、膜相の極性が上がり、波長がシフトしたものと考えられる。

この結果をふまえ、これら二つの膜溶媒を混合したときの最大吸収波長と、混合比の関係を調べた結果を Fig.4 に示す。KD-M11 では 649～589nm、KD-M9 では 568～540nm の範囲での波長制御が可能であることがわかる。

また、この波長範囲は、Fig.4 に併せて示した Ga-As-P 系 LED の発振波長をカバーするものであった。よって、本研究で用いた色素 KD-M11 と KD-M9 は、これらの

光源を利用したオプトードに応用した場合、最大の検出効率を得ることができることがわかった。

ここでは、膜溶媒の混合比とオプトードの最大吸収波長のみに注目したが、膜溶媒を混合して膜相の極性を変化させるということは、イオン対抽出メカニズムのイオンオプトードの場合、目的イオンの抽出量をも変化させることになり、オプトードの応答範囲や検出限界に影響を及ぼす。そこで、次にこの膜溶媒の混合比がイオン対抽出平衡定数に与える影響を調べた。ここではまずセンサー膜相とサンプルイオンを含む溶液相の2相間におけるイオン対抽出平衡の理論応答式を導出する。

2相間におけるイオン対抽出平衡は以下のように表せる。

$$\text{AHR}_o + i_w^+ = A_o + \text{Ri}_o + \text{H}_w^+ \quad (1)$$

ここで、AHR はプロトン化してプラスチャージを帯びた色素分子と脂溶性アニオンとのイオン対、i は目的イオン、A はプロトン付加していない色素分子、Ri は脂溶性アニオンと目的イオンのイオン対、H はプロトンである。下付の o, w はそれぞれ油層 (センサー膜相) 及び水層の化学種であることを示している。この場合、イオン対平衡定数 K は以下の式で表すことができる。

$$K = [\text{Ri}]_o \cdot [\text{A}]_o a_H / [\text{AHR}]_o a_i \quad (2)$$

ここでカッコ内はそれぞれの化学種の濃度、a は活量を表す。マスバランスの関係から、膜中での色素及び脂溶性アニオンのトータル濃度、 $[\text{A}]^{\text{tot}}$ 、 $[\text{Ri}]^{\text{tot}}$ 、は以下のように表せる。

$$[\text{A}]^{\text{tot}} = [\text{A}]_o + [\text{AHR}]_o \quad (3)$$

$$[\text{Ri}]^{\text{tot}} = [\text{Ri}]_o + [\text{AHR}]_o \quad (4)$$

よって、式(2)は(3)、(4)を使って以下のように表すことができる。

$$K = [\text{A}]_o \cdot ([\text{Ri}]^{\text{tot}} - [\text{A}]^{\text{tot}} + [\text{A}]_o) a_H / \{([\text{A}]^{\text{tot}} - [\text{A}]_o) a_i\} \quad (5)$$

今回の実験条件においては $[\text{A}]^{\text{tot}} = [\text{Ri}]^{\text{tot}}$ であるため、(5)式は以下の単純な式に置き換えることができる。

$$K = ([\text{A}]_o)^2 a_H / \{([\text{A}]^{\text{tot}} - [\text{A}]_o) a_i\} \quad (6)$$

よって、それぞれの実験条件におけるイオン対平衡定数 K を(6)式及び応答曲線の実験データから計算することができる。ここでは水相中の TMA カチオン濃度を一定に保ったまま pH を上昇させ、それぞれの実験条件において応答曲線を描き、この S 字型グラフから、(6)式で表されるイオン対抽出平衡定数を計算した。Fig.5 に典型的な応答曲線を示す。いずれのプロットも(6)式から計算される理論応答曲線 (実線) に一致しており、上記のイオン対抽出平衡が成立していることが確認できた。

Fig.6 に KD-M9、11 を用いた場合のイオン対抽出平衡定数の膜溶媒混合比依存性を示す。Fig.6 から、いずれの色素の場合にも NPOE-OH の増加に伴って $\log K$ の値は大きくなり、NPOE 単独の場合と比較して最大で約 3 桁大きくなることがわかった。

これは水酸基を導入した NPOE-OH の方が極性が高く、イオン性物質の抽出が容易になったためである。また、Fig.6 において 2 種の色素で曲線が平衡移動（シフト）した形になっているのは、それぞれの色素分子の pKa の違いに基づくものであり、そのシフト幅は色素の pKa の差とよい一致を示した。

これらの結果から、NPOE / NPOE-OH 系膜溶媒を用いる場合、最大で約 3 桁のイオン対抽出平衡定数の変化があり、イオン選択性オプトードの波長制御を行う際には、応答範囲や検出限界も考慮に入れる必要があることがわかった。

3-2 ニュートラルイオノフォア型イオン選択性オプトードへの応用

ここでは上記の基礎検討を行った、KD-M9、11 に基づく検出波長可変型オプトードに高選択性ニュートラルイオノフォアを組み合わせ、高選択性イオン選択性オプトードへの応用を検討した。

Fig.7 に膜溶媒として NPOE、高選択性ニュートラルイオノフォアとして DD16C5（ナトリウム）、TTD14C4（リチウム）、K23E1（カルシウム）を用いた場合のイオン選択性オプトードの応答特性を示す。いずれも最大吸収波長は TMA カチオンの抽出実験で得られた 649nm よりも低波長側にシフトしていることがわかる。これらのオプトードを NPOE-OH を用いて評価したところ、全てのオプトードにおいて TMA 抽出実験の結果と一致する 589nm という最大吸収波長が得られたことから、NPOE-OH 中における最大吸収波長の位置は膜溶媒の極性が支配的であるが、非水素結合供与性膜溶媒の NPOE を用いた場合、膜中で生成するイオン-イオノフォア錯体の表面電荷密度が TMA カチオンと比較して大きいために、最大吸収波長の位置が影響を受けてしまったものと考えられる。

次にリチウムイオンオプトードを用いて目的イオンへの応答範囲を検討した。Fig.8 pH5 のバッファーを用いたときの応答曲線を示す。膜溶媒として NPOE-OH を用いた場合は 10^{-4} M 付近から、膜溶媒として NPOE を用いた場合には 10^{-1} M 付近から応答が始まっており、この約 3 桁の差は Fig.6 において、TMA カチオンの抽出実験を行ったときの結果とよく一致していることがわかる。

4：結論と今後の展望

本研究では、高性能オプトード開発の基礎検討を行い、種々のニュートラルイオノフォアを用いたイオン選択性オプトードへの応用を行った。今回開発したイオン選択性オプトードは膜溶媒の極性を制御することによって検出波長を自由自在に制御することが可能であった。

オプトードの開発においては、光源として安価な発光ダイオードやレーザーなどを用いる研究が数多くなされてきたが、これらの光源は基本的に単色光であり、色

素の最大吸収波長と光源の発振波長のマッチングが問題とされてきた。これまでに、光源の発振波長と色素の最大吸収波長とのコンパチビリティを議論する論文が発表されているが、通常の pH 指示薬の最大吸収波長は色素に固有のため、これまでは、膨大な数の色素分子を合成して、最大吸収波長が光源とマッチするものを選ぶ、という方法であった。^{22,23} しかしながら今回開発した、MID を用いたイオン選択性オプトードでは、色素分子が極性変化に伴って最大吸収波長シフトを示すことを利用するため、単一の色素分子を使って、任意の検出波長における吸光度変化を、検出シグナルとして利用できる。この方法論を用いることによって、波長のミスマッチの問題を解決することができ、オプトードの感度を最適化することが可能となる。

本研究ではカチオンオプトードの開発を中心に行ったが、イオン対抽出の方法論はアニオンにも適用できるため、将来は検出波長可変型アニオン選択性オプトードの開発も期待できるものと思われる。

参考文献

- (1) Suzuki, K.; Tohda, K.; Tanda, Y.; Ohzora, H.; Nishihama, S.; Inoue, H.; Shirai, T. *Anal. Chem.* 1989, 61, 382.
- (2) Suzuki, K.; Ohzora, H.; Tohda, K.; Miyazaki, K.; Watanabe, K.; Inoue, H.; Shirai, T. *Anal. Chim. Acta* 1990, 237, 155.
- (3) Morf, W. E.; Seiler, K.; Rusterholz, B.; Simon, W. *Anal. Chem.* 1990, 62, 738.
- (4) Bakker, E.; Buhlmann, P.; Pretsch, E. *Chem. Rev.* 1997, 97, 3083.
- (5) Hisamoto, H.; Kim, K.-H.; Manabe, Y.; Sasaki, K.; Minamitani, H.; Suzuki, K. *Anal. Chim. Acta* 1997, 342, 31.
- (6) Dohner, R.E.; Spichiger, U.E.; Simon, W. *Chimia* 1992, 46, 215.
- (7) Freiner, D.; Kunz, R.E.; Citterio, D.; Spichiger, U.E.; Gale, M.T. *Sens. Actuators B*, 1995, 29, 277.
- (8) Shortreed, M. R.; Bakker, E.; Kopelman, R. *Anal. Chem.* 1996, 68, 2656.
- (9) Hisamoto, H.; Miyashita, N.; Watanabe, K.; Nakagawa, E.; Yamamoto, N.; Suzuki, K. *Sens. Actuators B*, 1995, 29, 378.
- (10) Hisamoto, H.; Sato, S.; Sato, K.; Siswanta, D.; Suzuki, K. *Anal. Sci.* 1998, 14, 127.
- (11) Hisamoto, H.; Watanabe, K.; Nakagawa, E.; Siswanta, D.; Shichi, Y.; Suzuki, K., *Anal. Chim. Acta* 1994, 299, 179.
- (12) Hisamoto, H.; Watanabe, K.; Oka, H.; Nakagawa, E.; Spichiger, U. E.; Suzuki, K. *Anal. Sci.* 1994, 10, 615.
- (13) Hisamoto, H.; Nakagawa, E.; Nagatsuka, K.; Abe, Y.; Sato, S.; Siswanta, D.; Suzuki, K. *Anal. Chem.* 1995, 67, 1315.

- (14) Bakker, E.; Lerchi, M.; Rosatzin, T.; Rusterholz, B.; Simon, W. *Anal. Chim. Acta* 1993, 278, 211.
- (15) Tan, S. S. S.; Hauser, P. C.; Wang, K.; Fluri, K.; Seiler, K.; Rusterholz, B.; Suter, G.; Krutli, M.; Spichiger, U. E.; Simon, W. *Anal. Chim. Acta* 1991, 255, 35.
- (16) He, H.; Li, H.; Mohr, G.; Kovacs, M.; Werner, T.; Wolfbeis, O. S. *Anal. Chem.* 1993, 65, 123.
- (17) Wang, E.; Zhu, L.; Ma, L.; Patel, H. *Anal. Chim. Acta* 1997, 357, 85.
- (18) Lehmann, F.; Mohr, G.J.; Czerney, P.; Grummt, U.W. *Dyes and Pigments*. 1995, 29, 85.
- (19) Citterio, D.; Rasonyi, S.; Spichiger, U.E. *Fresenius J. Anal. Chem.*, 1996, 354, 836.
- (20) Hisamoto, H.; Tohma, H.; Yamada, T.; Yamauchi, K.; Siswanta, D.; Yoshioka, N.; Suzuki, K. *Anal. Chim. Acta* 1998, 373, 271.
- (21) Hisamoto, H.; Manabe, Y.; Yanai, H.; Tohma, H.; Yamada, T.; Suzuki, K. *Anal. Chem.* 1998, 70, 1255.
- (22) Klimant, I.; Belser, P.; Wolfbeis, O. S. *Talanta* 1994, 41, 985.
- (23) Mohr, G. J.; Wolfbeis, O. S. *Anal. Chim. Acta* 1994, 292, 41.

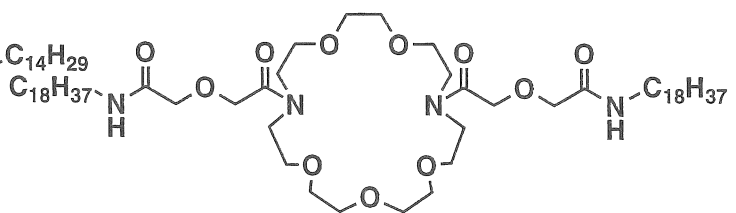
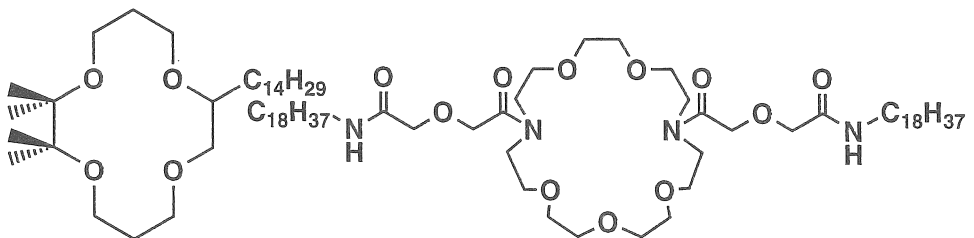
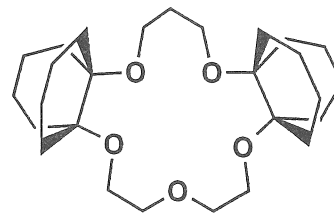
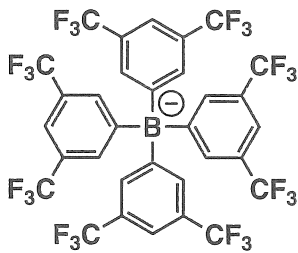
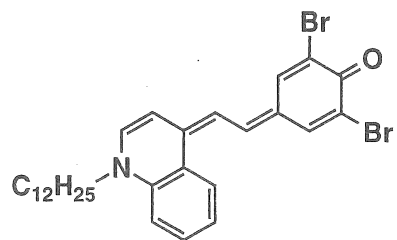
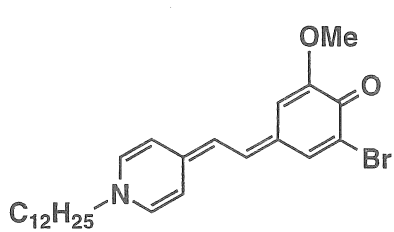
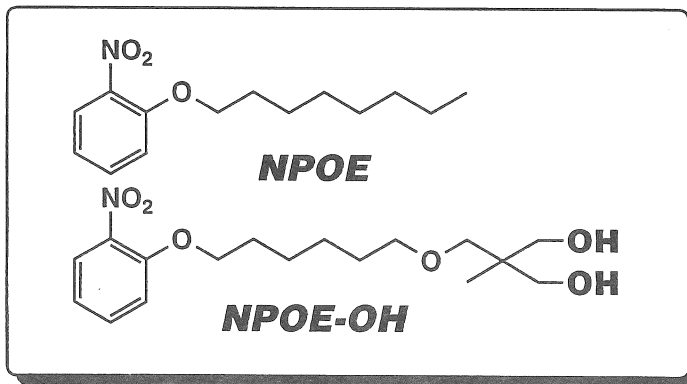


Figure 1 Chemical structures of membrane components

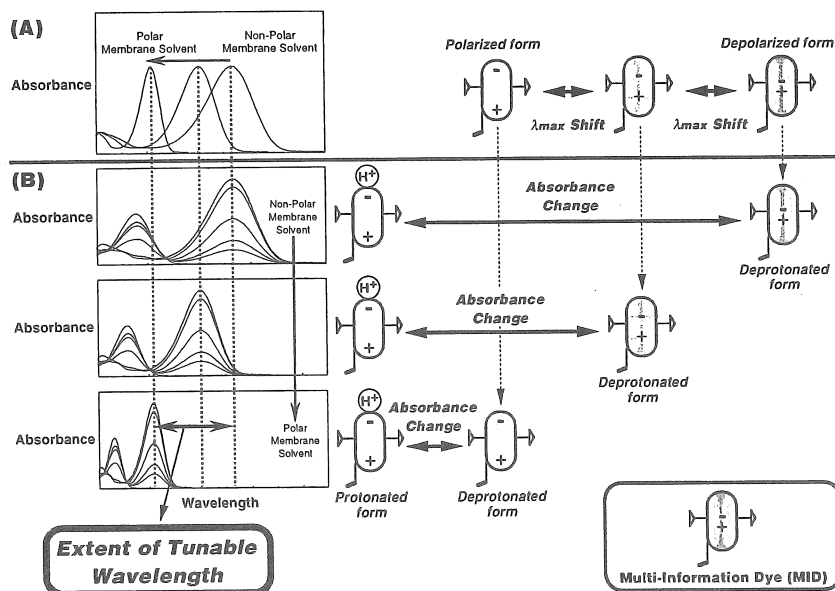


Figure 2 Schematic illustration of the concept for developing a λ_{max} -tunable ion-selective optode employing MID. (A) Shift in λ_{max} position of the optode membranes upon changing the polarities of membrane solvents, and subsequent structural changes in MID. (B) Absorbance changes upon protonation of the MID in the respective polarities of the membrane solvents, and subsequent structural changes in MID.

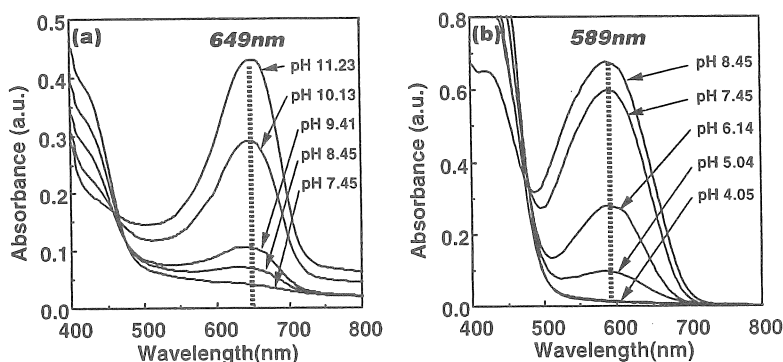


Figure 3 Typical absorption spectra of the KD-M11-based membranes upon extraction of tetramethyl ammonium cations. (a) NPOE-based membrane; (b) NPOE-OH-based membrane

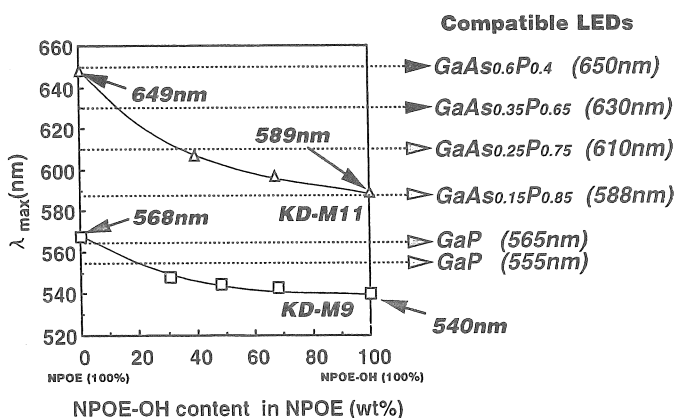


Figure 4 Variation in the λ_{max} values of optode membranes with varying mixing ratios of the membrane solvents. Here compatible LEDs are also shown.

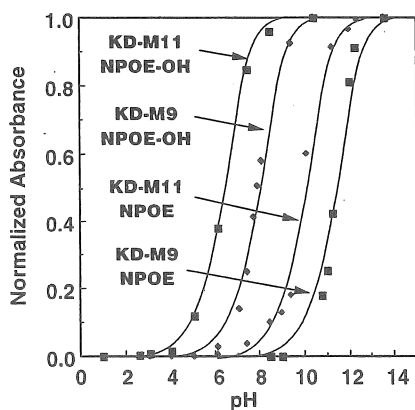


Figure 5 Typical response curves of different optode membranes as a function of pH value in the water phase. All response curves were calculated by the theoretical response equation based on eq.(6). Concentrations of cationic species (tetramethyl ammonium cation) in the water phase were kept constant at 0.1M.

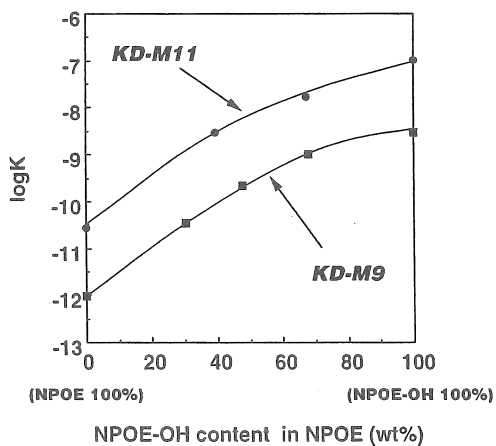


Figure 6 Variation in the logarithmic equilibrium constant ($\log K$) values of optode membranes with varying mixing ratios of the membrane solvents.

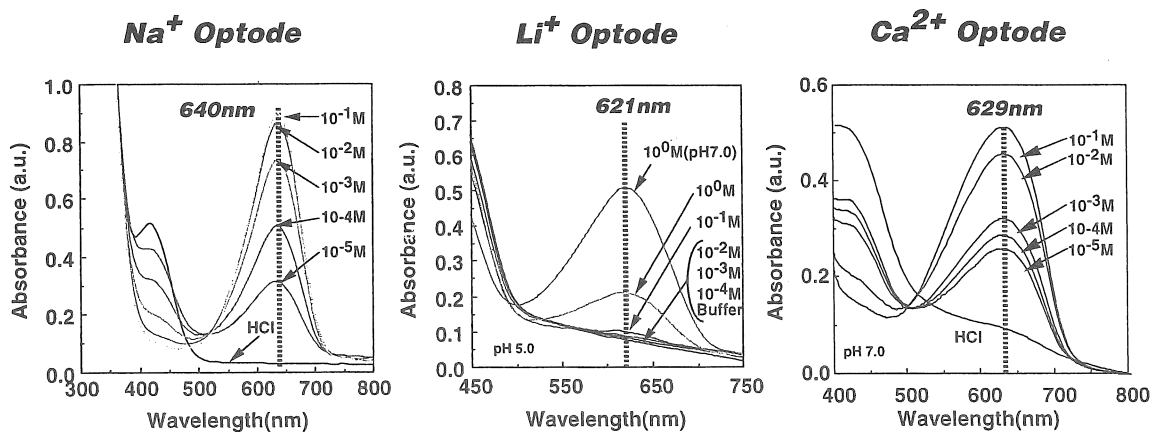


Figure 7 Typical absorption spectra of the neutral ionophore-based ion-selective optode membranes based on KD-M11 and NPOE.

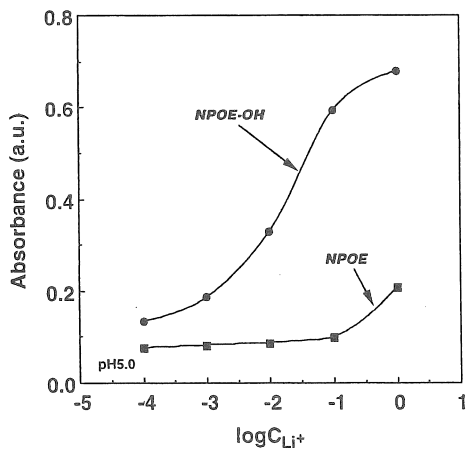


Figure 8 Response curves of the lithium ion-selective optode membranes based on KD-M11 and TTD14C4 at pH 5.0 using different membrane solvents.

Development of High Performance Sodium and Chloride Selective Optode Devices

Hideaki Hisamoto

Department of Applied Chemistry, Keio University

Summary

Recently, we proposed a molecular design concept for the dyes called "multi-information dyes (MIDs)" for application to multi-dimensional optical chemical sensing. The MIDs used in the present investigation exhibit two kinds of spectral changes, which are a λ_{\max} shift based on a polarity change and an absorbance change based on protonation of the dye molecule.

Because the MID has plural spectral change properties, we here report the design of a novel unique " λ_{\max} -tunable" ion-selective optode as one of the applications of MIDs. Basically, the λ_{\max} -tuning was performed by varying the polarity of the membrane solvent. In the present investigation, the binary membrane solvent mixture of 2-nitrophenyl octylether (NPOE) and the newly synthesized NPOE derivative of NPOE-OH was used to continuously vary the polarity. The optodes were prepared as a PVC-less liquid membrane-type sensing plate which is similar to that recently reported by our group. Preliminary results clarified that the λ_{\max} tuning in the range from 649nm to 589nm and from 568nm to 540nm was possible for the optode using KD-M11 dye and KD-M9 dye, respectively, in an NPOE/NPOE-OH optode membrane system. This system was then applied to the neutral ionophore-based ion-selective optode (Na^+ , Li^+ , Ca^{2+}).

From a theoretical point of view, varying the polarity (hydrogen-bond donor ability) of the membrane solvent influences the equilibrium constant in the theoretical response equation for the optode. The ion-extraction equilibrium constant for the optode membrane using NPOE was increased by adding NPOE-OH. In an extreme situation (NPOE-OH 100%), the equilibrium constant was ca. 3 orders of magnitude larger than that in the optode based on NPOE. This fact suggests that the measurable range of the optode can be lowered upon addition of NPOE-OH in NPOE. Correlation between the mixing ratio of the two membrane solvents and the position of λ_{\max} and the equilibrium constants was examined in detail.

The λ_{\max} tuning technique is useful for preparing an optode system using a low cost light source such as a light emitting diode (LED) or a popular inexpensive laser.