

水中の溶存物検出に向けた電流・光応答に基づく小型分析系の開発

Electrochemical and Photometric Sensing for Some Substances in Environmental Water

石松 亮一

Ryoichi ISHIMATSU

工業化によって経済発展の著しい新興国や発展途上国では環境水の汚染が深刻であり、これらの地域で環境水を生活用水として用いている人々にとっては、水の汚染は死活問題である。そこで、環境水中の汚染物質を「その場」で「迅速に」測定し、測定結果を即座にフィードバックするシステムが必要である。我々はこれまでに電流応答や光応答に基づく検出系を用いて環境水に含まれるいくつかの物質を定量可能な小型の検出システムを構築してきた。さらに、得られたデータを、インターネットを通じて共有できるシステムを構築している。これらの我々の研究が新興国や発展途上国における生活の質の向上の一助になると期待している。

Pollution of environmental water is a worldwide concern, especially in developing countries, and a potentially threat for the people who use polluted environmental water as daily life water in the countries. Therefore, detecting pollutants in environmental water “in-site” and sharing the results with people are beneficial. So far, we developed some portable detectors based on amperometric and photometric responses to detect some substances in environmental water. Moreover, we are developing a system to share the results of measurements through the internet. We hope that measuring samples “in-situ” and sharing result through the internet helps to improve the quality of life for the people in the developing countries.

はじめに

水は、全ての生物に必須の物質であり、生体系では、生物の活動に非常に重要な役割を果たしている。人類を含め多くの生物が利用できる水資源のほとんどは、地表に存在する有限の水であり、地表面での蒸発と上空での凝固・降雨によって循環している。「純水」は、数多くの物質を溶解させることができる溶媒であり、河川、海、湖沼等の水は多くの微量溶存物を含む。溶存物のうち、アミノ酸やミネラル分は生物にとって有用である場合が多いが、重金属イオンやいくつかの無機イオンは生物にとって有毒である。産業革命以降、人類の生産活動の拡大によって水の汚染問題は頻繁に取り上げられてきた。例えば、鉛中毒や、日本ではカドミウムによるイタイイタイ病などが挙げられる。また洗剤による水質汚染も生体系への悪影響が懸念されている^[1]。日本では、上下水道の完備や工場の排液規制によって、水の品質と安全性はかなり保たれており、有害物が飲料水に混入することはほぼ無いが、世界的に見ると、主として人類の生産活動によって引き起こされる環境水や土壌（農作物）の汚染が全て解決されているとは言えず、特に経

済発展が著しい東南アジアで、潜在的な問題となっている。河川水や地下水を直接利用する場合、問題はより深刻であり、公的な研究機関に依らず、利用者がその場で水の安全性を確認できることが望ましい。もちろん、その場で測定可能な分析系は、全ての人がその利便性を享受することができる。そこで、我々は、特に、イオン移動ボルタンメトリーやイムノアッセイ法に基づく小型の測定系の開発に着手し、開発した分析システムが水中のいくつかの金属イオン、親水性アニオン、非イオン性界面活性剤や除草剤の土壌代謝物の検出に応用できることを示した。また、水の浄化に利用可能なナノポア薄膜のイオン透過性を明らかにした。さらに「その場」分析を指向し、ポータブルな吸光光度計を用いて、今後、東南アジアにおける環境水中の金属イオンの定量を行うことを計画している。

イオン液体と水との界面を横切るイオン移動による親水性イオンの検出

イオン液体はイオンのみから構成される常温で液体状態の塩であり、構成イオンの疎水性を高くすると、水と混じり

合わなくなる。水相をマイクロピペットに充填し、イオン液体に浸漬させると、水とイオン液体の界面を形成する。ここに、イオン液体相が正になるように電圧を印可すると、水相に存在する陰イオンがイオン液体相に移動し、この時に流れる電流によって水相に存在するイオンの定量が可能となる(イオン移動ボルタンメトリー, Figure 1)。このイオン移動ボルタンメトリーでは、電気化学的に検出の困難な、酸化還元応答を示さないイオンの検出が可能という利点を有しているが、イオン液体を構成するイオンや、水相の溶液抵抗の低減を目的に添加した支持電解質イオンが目的イオンよりも低い

印加電圧で移動してしまう場合、目的イオンの定量が困難である。一般にイオン液体の粘度を低くするために、構成イオンには、疎水性が比較的小さく、水へ移動しやすい有機イオンが用いられてきており、比較的親水性のイオンの検出には不向きであった。そこで、我々は、イオン液体を構成するイオンの疎水性を非常に高くし、さらにイオン液体と水相に存在する陰イオンの特異的な相互作用を減らすことによって、目的イオン以外のイオンがこれまでに報告されている中で最も移動しにくいイオン液体 | 水界面を創出し、比較的親水性の SCN^- や ClO_4^- の水相からイオン液体相へのイオン移動による検出が可能であることを示した^[2]。 ClO_4^- は日本では要検討項目に分類され、浄水中の目標値が設定されている。

走査型電気化学顕微鏡による水中イオンのシリコンナノ薄膜透過性測定

マイクロピペット先端に形成した液 | 液界面は、イオンの定量のみならず、ナノ細孔薄膜の透過性を見積もりにも応用できる。1,2-ジクロロエタン(DCE)は粘性が低く、マイ

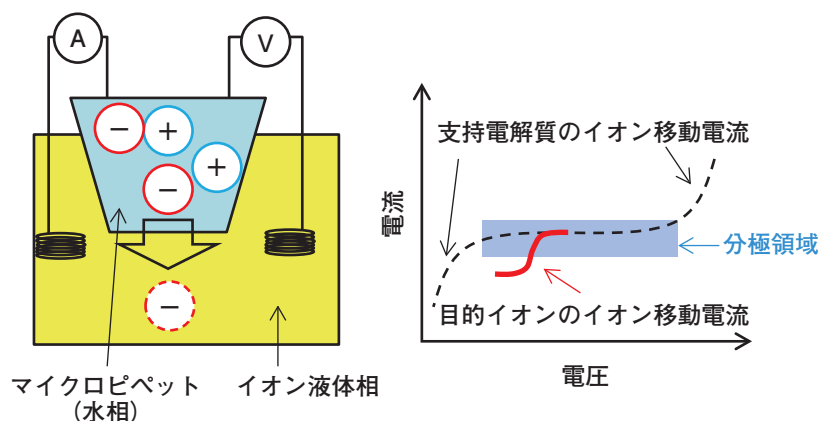


Figure 1 (左) マイクロピペット先端の水 | イオン液体の分極性界面を利用したイオン移動ボルタンメトリーによる親水性アニオンの検出と(右)得られるボルタモグラム。

クロピペットに充填しやすいため、DCEを充填したピペットは走査型電気化学顕微鏡(SECM)のプロープとしてしばしば用いられる。そこで、DCEを充填したマイクロチップ及びナノチップの先端と水との界面に形成したマイクロ界面及びナノ界面を横切るイオン移動をプローブとして用いるSECMによって(Figure 2a) Siナノ薄膜(厚さ: 十数nm, ポア径: 数~数十nm)の一価のイオンである ClO_4^- 、対称4級アンモニウム($\text{N}(\text{C}_n\text{H}_{2n+1})_4^+$, $n=1\sim4$)や多価イオンの透過性を見積もった(Figure 2c)^[3]。透過性は、SECMのチップをSiナノポア薄膜に接近させる際に減少する界面を横切るイオン移動電流とナノ薄膜までの距離によって見積もることができる(Figure 2b)。この時、一価のイオンでは透過性は拡散係数に比例するが、高分子イオンでは、イオンサイズやシリコンナノポアの表面電荷との静電反発によって透過性が大きく減少することが明らかになった。この様なナノ薄膜の透過性は非常に高く、マイクロ、ナノプローブを用いるSECMで正確に見積もることができ、ナノポア膜を用いる水浄化に関する重要な知見が得られた。

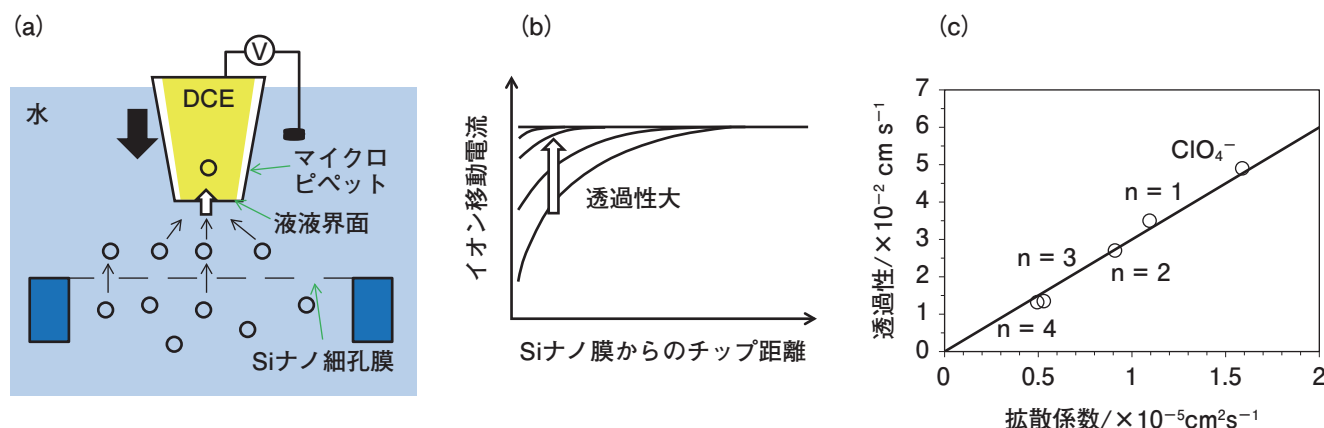


Figure 2 (a) マイクロピペット先端に形成した油 | 水界面をプローブとして用いるSECMによるナノポア薄膜の透過性測定の模式図。(b) 透過性とイオン移動電流の関係。(c) 透過性と拡散係数の関係。

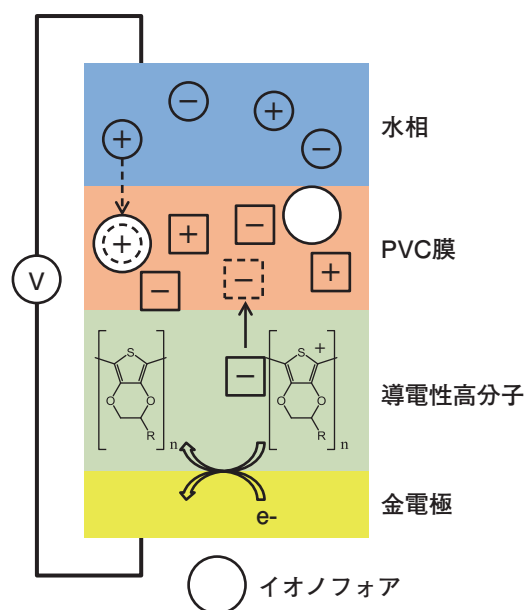


Figure 3 電流応答型ISEの模式図。電圧印加によって、水中のイオンがPVC膜に移動すると同時に導電性高分子が酸化還元し、その対イオンがPVCへ移ることによって電流が流れる。

電流応答型イオン選択性電極の開発と金属カチオンの検出

K^+ , Ag^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , Pb^{2+} に選択的に応答する新たな電流応答型イオン選択性電極(ISE)を作製した。この電流応答型ISEでは、通常の電圧応答型ISEでは測定が困難であった数種類のイオンの同時定量が可能となる。実際に Ca^{2+} と

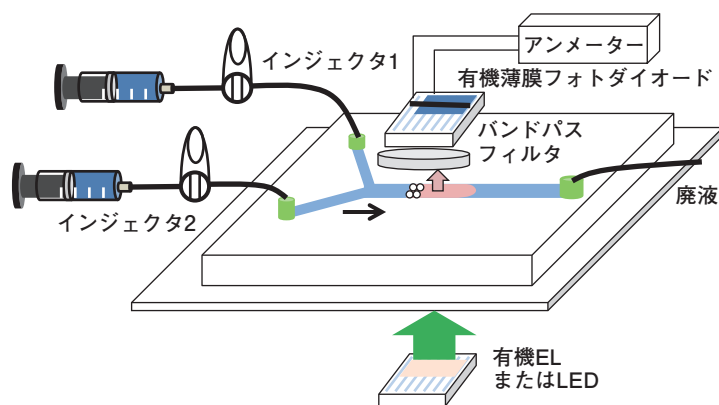


Figure 4 有機ELを光源に有機薄膜フォトダイオード(OPD)を検出部に用いるマイクロチップ上でのフローインジェクション分析。

インジェクションの順番

- ① 1次抗体
磁気ビーズ
- ② 抗原
- ③ 標識化2次抗体

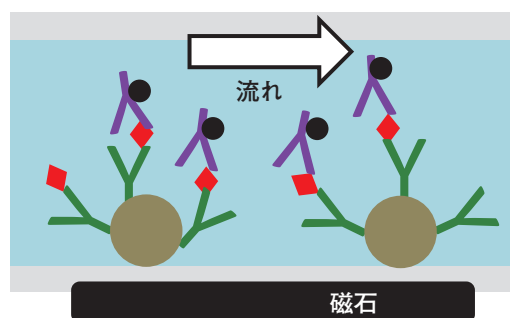


Figure 5 磁気ビーズを用いるフローインジェクション免疫アッセイ。

Ba^{2+} の同時定量が同一電極で可能であることを示した。ISEは通常、ポリ塩化ビニル(PVC)などのポリマーマトリックス、*o*-ニトロフェニルオクチルエーテルなどの可塑剤、イオノフォア(配位子)等で構成されるが、その高い溶液抵抗が原因で、電流測定ではなく、電位差測定による検出が広く行われてきた。しかしながら、PVC膜を薄膜(数十 μm 以下)にすることにより、溶液抵抗が無視できるようになり、イオン移動電流に基づく検出が可能になる(Figure 3)。そこで、導電性高分子の電解重合膜上にスピンコート法によって K^+ , Ag^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , Pb^{2+} のイオノフォア(配位子)を含むPVC膜を形成することにより、これらの親水性イオンの界面を横切る促進イオン移動を可能とし、これらのイオンの定量と促進イオン移動の速度やそのメカニズムについて明らかにしてきた^[4]。

有機ELの光源と有機薄膜フォトダイオードを検出部に用いるマイクロチップの作製：リン酸イオンの定量と非イオン性界面活性剤の免疫アッセイ

イオン移動に基づく電流検出では、電荷をもたない中性物質の検出が困難である。非イオン性界面活性剤であるアルキルフェノールエトキシラートは、工業的に大量に消費されており、日本でも水道水中の濃度に対して目標下限値が設置されている。ガスクロマトグラフィー等でも非イオン性界面活性剤の検出は可能であるが、装置が大掛かりになる。

そこで、簡便な検出法の構築を目的とし、有機ELの光源と有機薄膜フォトダイオード(OPD)を検出部に用いたPDMSマイクロチップ上でのフロー蛍光免疫アッセイ法の開発を行った。有機ELやOPDは軽薄であり、比較的簡単に作製できることに加え、構成材料の選択により、発光波長や検出波長をある程度選択できるという特徴を持っている。したがって分析対象物に合わせて、波長のカスタマイズが可能である。この検出システムでは、有機ELを光源とし、免疫アッセイと酵素反応で生成した蛍光物質からの蛍光量をOPDの光電流量へ変換を行うことによって目的物質の定量を行う(Figure 4)。これまでに磁気ビーズを用いて、非イオン性界面活性剤であるアルキルフェノールエトキシラートのppbレベルでの検出が可能であることを示した(Figure 5)^[5]。通常、有機ELの発光スペクトルはブロードであるが、構成材料にテルビウム(Tb)錯体やユウロピウム(Eu)錯体を用いることによって発光スペクトルが格段にシャープになる。これの

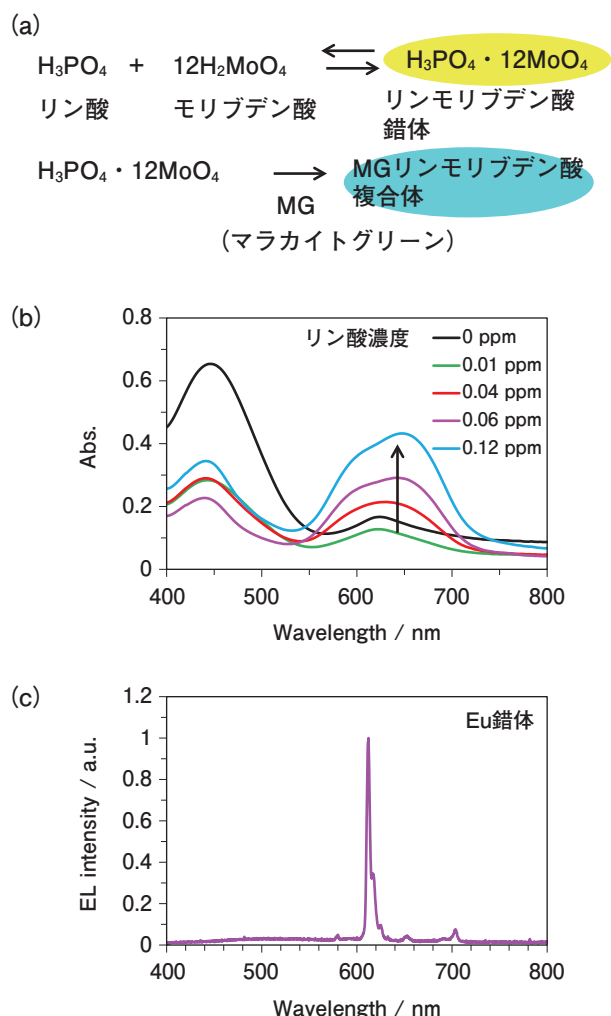


Figure 6 (a)MG-リンモリブデン酸によるリン酸の定量, (b)リン酸濃度変化によるMG-リンモリブデン酸複合体の吸光度スペクトル変化。(c)ユーロピウム (Eu) 錯体を構成要素とする有機ELの発光スペクトル。

特性を利用することにより、バンドパスフィルターが不要なフロー吸光分析チップを作製し、リン酸の定量を行った (Figure 6)^[6]。これらの手法は、近郊の河川水中の非イオン界面活性剤とリン酸の定量に展開した。また、東南アジアでは、稲作用に用いられる場合がある、ジフェニルエーテル系の除草剤の土壌代謝物であるジフェニルエーテルの検出が可能なフローインジェクションイムノアッセイ系の構築も行った^[7]。

シリコンオプティカルテクノロジーを駆使したポータブルデバイスを用いる環境汚染物質の「その場」分析

ごく最近、九州大学の興教授らによって提案、開発されたシリコン樹脂と機能材料を組み合わせた新しいポータブルな光分析モジュールを用いる水分析の共同研究を展開している。この新システムは、シリコン樹脂と機能材料を組み合わせた柔軟性のある検出部 (SOT: シリコンオプティカルテクノロジー) とスマートフォンやタブレットPCなどのスマートデバイスによる制御部から構成される^[8]。測

定の制御やデータの転送はBluetooth通信によって行われる全く新しい分析装置である。このシステムを用いて、今後、東南アジアにおける環境水中の鉛やクロムなどの重金属イオンを中心とした汚染物質の定量を行うことを計画している。装置は、インターネットを通じて、Googleマップ上に値をマッピングし、研究者間で情報の共有を行えるように改良中である。

おわりに

インターネットの普及とグローバル化によって、情報、ヒト、モノの移動が活発になり、多くの国が工業化に伴う急速な経済発展を遂げてきている。急速な発展にはしばしば環境問題が付随し、汚染物質による健康被害が起こる。今後も、世界中で多くの発展途上国の経済発展とともに環境汚染の問題が頻発すると予想できる。環境水の汚染は、生態系への影響も大きく、環境水を生活用水として利用している人々によって深刻な問題である。よって、「その場」で迅速に環境汚染物質を測定する手法は、安全でない水を摂取しないためにも非常に重要である。環境水は非常に多くの物質を含み、我々が開発した手法は全ての溶存物質を網羅しているわけではないが、いくつかの金属イオン、親水性アニオン、除草剤代謝物、非イオン性界面活性剤の検出が可能である。これらの分析系は小型であり、「その場」での迅速な測定が可能である。さらに、今後は、九州大学の興教授らが開発したポータブル光検出器を駆使し、東南アジアにおけるインドネシアやタイなどの新興国において河川や海洋水中の鉛、クロム、カドミウムイオン、リン酸等の定量を共同で行う。加えて、インターネットを通じてデータの共有をおこなう実証実験も計画している。我々の研究が、発展途上国における環境水のモニタリングの一助になれば幸いである。

謝辞

これらの研究は、京都大学の垣内 隆名誉教授、ピッツバーグ大学の雨宮 成教授、九州大学の今任稔彦教授、安達千波矢教授、興 雄司教授、ウシオ電機の森田金市氏のご指導、ご協力があったて成し遂げることができました。心より感謝申し上げます。

参考文献

- [1] 中央環境審議会水環境部会 水生生物保全環境基準専門委員会「水生生物の保全に係る水質環境基準の項目追加等について(2次報告)」H24年
- [2] R. Ishimatsu, N. Nishi, and T. Kakiuchi "Wide Polarized Potential Windows at the Interface between Water and an Ionic Liquid, Tetraheptylammonium Tetrakis [3,5-bis (trifluoromethyl)Phenyl] borate", *Chem. Lett.*, **2007**, 36, 1166-1167.
- [3] R. Ishimatsu, J. Kim, P. Jing, C.C. Striemer, D. Z. Fang, P. M. Fauchet, J. L. McGrath, and S. Amemiya, "Ion-Selective Permeability of Ultrathin Nanopore Silicon Membrane as Probed by Scanning Electrochemical Microscopy Using Micropipet-Supported ITIES Tips" *Anal. Chem.*, **2010**, 82, 7127-7134.
- [4] R. Ishimatsu, A. Izadyar, B. Kabagambe, Y. Kim, J. Kim and S. Amemiya, "Electrochemical Mechanism of Ion-Ionophore Recognition at Plasticized Polymer Membrane/Water interfaces" *J. Am. Chem. Soc.*, **2011**, 133, 16300-16308.
- [5] R. Liu, R. Ishimatsu, M. Yahiro C. Adachi K. Nakano T. Imato, "Fluorometric Flow-Immunoassay for Alkylphenol Polyethoxylates on a Microchip Containing a Fluorescence Detector Comprised of an Organic Light Emitting Diode and an Organic Photodiode" *Talanta*, **2015**, 134, 37-47
- [6] R. Liu R. Ishimatsu M. Yahiro C. Adachi K. Nakano T. Imato "Photometric Flow Injection Determination of Phosphate on a PDMS Microchip Using an Optical Detection System Assembled with an Organic Light Emitting Diode and an Organic Photodiode" *Talanta*, **2015**, 132, 96-105.
- [7] R. Ishimatsu, K. Nakano T. Imato, "Flow Injection Immunoassay for a Degeneration Product of Herbicide, 3-PBA with Fluorescent Carbon Nanodots" 20th ICFA Abstract Book, **2016**, p 50
- [8] H. Nomada, K. Morita, H. Higuchi, H. Yoshioka, Y. Oki, "Carbon-Polydimethylsiloxane-Based Integratable Optical Technology for Spectroscopic Analysis" *Talanta*, **2017**, 166, 428-432.



石松 亮一

Ryoichi ISHIMATSU

九州大学 大学院工学研究院 応用化学部門
助教
博士 (工学)