

令和元年6月14日現在

機関番号：32682  
研究種目：若手研究(B)  
研究期間：2016～2018  
課題番号：16K21052  
研究課題名(和文) 光ファイバーを利用した液体クロマトグラフィックセンサーの開発と現場分析への応用  
研究課題名(英文) Development of fiber optic sensor for liquid chromatography and application of on site analysis  
研究代表者  
岡崎 琢也 (Takuya, Okazaki)  
明治大学・理工学部・助教  
研究者番号：60772556  
交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、液体クロマトグラフィーによって分離された分析物を検出できる光ファイバーセンサーの開発を目的とした。実験では、全反射減衰(ATR)センサーおよび長周期ファイバーグレーティングという二種類の光ファイバーセンサーを用い、流路内に直接組み込むことによってフローセルが作製できた。それぞれのセンサーについて、ポンプ流速とフローセル内径、試料量の関係を明らかにした。ATRセンサーを用い、ODSカラムで分離したメチレンブルーおよびニューメチレンブルーが検出できた。

#### 研究成果の学術的意義や社会的意義

環境水質分析における採水後の迅速な測定は、分析物のその場の化学形態により近い状態を反映するため重要な役割を担っている。現在、様々な分析機器の可搬化が進められているが高速液体クロマトグラフィーなどの分離分析に関する検討は報告が少ない。本研究では、光ファイバー-ATRセンサー可搬性や選択性、必要試料量の少なさを利用し、液体クロマトグラフィーと融合した分析システムの開発を目指した。成果として、センサーの検出感度に課題が残ったものの、分析物の連続検出に成功し、疎水性の異なるメチレンブルーとニューメチレンブルーの分離分析を達成した。

研究成果の概要(英文)：In this study, we aimed to develop an fiber optic sensor that can detect analytes separated by liquid chromatography. In the experiment, two types of the fiber optic sensors which are an attenuated total reflection (ATR) sensor and an long period fiber grating (LPFG) were used. Flow cells were fabricated by incorporating those sensors into the flow path. The relationship between the flow rate, the inner diameter of the flow cells and the volume of the sample were investigated. Methylene blue and new methylene blue separated on a C18 column were detected by using the ATR sensor.

研究分野：分析化学

キーワード：光ファイバーセンサー 全反射減衰法 長周期ファイバーグレーティング クロマトグラフィー

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

分析機器の小型化は重要なニーズであり、特に環境水質分析の分野では、液体試料中の分析物の多くがその pH や酸化還元状態、光、温度等の変化によって変質するため、現場で迅速に分析値を得ることは重要な技術課題である。一方、フェノール類や多環芳香族炭化水素 (PAHs)、界面活性剤類、アルデヒド類、農薬類など、環境基準や飲料水基準で規制される多くの有機物質は、紫外線の影響を受けやすく、微量で毒性を発現するものも多いため、これらを現場で分離・測定するという研究例はほとんど見られない。これらは一般的にサンプリング後、高速液体クロマトグラフ (HPLC) などによって室内で分析される。HPLC は高圧ポンプや、光学検出器では駆動式の分光器を要することから可搬性は低く、現場まで持ち運んで分析するといった例は少ない。

申請者は、光ファイバーを利用した全反射減衰 (ATR) 法に基づく化学センサーの開発に従事してきた。これは一本の光ファイバーで光源と可搬性の高い分光検出器を接続し、コアと呼ばれる光導波路の一部をむき出しにすることで、コア表面に接する物質の吸光スペクトルを検出できる手法である。これは光ファイバー表面から数百 nm の長さで染み出るエバネッセント波の吸収を利用するため、測定に必要な試料量が極端に少ない。また、長周期ファイバーグレーティング (LPFG) と呼ばれる光ファイバー屈折率センサーについても研究を行ってきた。これは、シングルモード光ファイバーのコアに屈折率の変位として回折格子が書き込まれたものであり、漏洩する光に起因した強度スペクトルの減衰が生じている。この減衰は屈折率変化によって波長シフトを引き起こし、 $10^{-6}$  RIU 程度の屈折率変化を検出できることが報告されている。

### 2. 研究の目的

分析装置の小型化・可搬化は、環境のみならず食品、医療など様々な分野において重要な技術課題である。また、環境水質分析における採水後の迅速な測定は、分析物のその場の化学形態に近い状態を反映するため重要な役割を担っている。本申請研究では、液体クロマトグラフと可搬性の高い光ファイバーセンサーを融合し、現場での多成分分析を可能とするセンサーの開発を試みた。

### 3. 研究の方法

光ファイバー ATR センサーでは、ヘテロコアと呼ばれる方式を採用した。マルチモード光ファイバーはソーラボ製の FG105ACA を使用し、シングルモード光ファイバーは SMF-28 のジャケットを除去し、エタノールで洗浄したものをを用いた。光源と検出器は、日本分光の LUS-373 およびポータブル型紫外可視分光検出器 MV-3100 を使用し、光ファイバーセンサーによって接続した。LPFG はアーク放電法によって簡便に作製されたものを使用した。検出器は光ファイバー用のポータブル型近赤外分光検出器 (MV-3300, 日本分光) を用い、900 nm から 1600 nm の光強度を検出した。光源は汎用のハロゲン光源に光ファイバーを接続して用いた。HPLC は日本分光の LC-2000 システムを利用し、ポンプ、UV 検出器、カラムオープン、カラム (C18, 粒子径 5 $\mu$ m, 内径 4.6 mm, 長さ 150 mm) を接続して使用した。

### 4. 研究成果

#### 4.1 光ファイバー ATR センサーの最適化

光ファイバーを使用した ATR センサーは、光ファイバーのコアを試料に対してむき出しにし、光の全反射の際に漏出するエバネッセント波の光吸収を検出器によって検出する。我々がこれまでの研究で利用してきた光ファイバーは、クラッドがポリマーで構成されており、有機溶媒によって露出させることが容易であったが、ポリマーによる光吸収で紫外領域が利用できない。そこで、本研究ではヘテロコアと呼ばれる方式に着目した (*Microchimica Acta* 165(3):335-339 など)。ここでは、クラッドがシリカで構成されるマルチモードファイバーに、同径のシングルモード光ファイバーをセンサー部として融着することで、シングルモードのクラッドがマルチモードのコアとして働き、試料水界面での全反射が起こる。これにより、紫外領域を含めたエバネッセント波の吸収が検出可能となる。さらに、この方法は高い再現性でセンサーを容易に構築できる特徴がある。実験では、紫外から可視吸収を持つエチルバイオレットなどの色素を用いて紫外領域 (190 nm ~) を含めた吸収スペクトルのミリ秒単位での測定に成功した。

#### 4.2 光ファイバー ATR センサーによるオンライン分析

以上のセンサーを用い、フローセルを作製した。T 字のコネクターに流路に対して横方向からセンサーを通し、下方向から送液することでセンサーを流路に挿入した。ポンプにフローセルを直接接続し、セル内径と流速、試料量の関係を調査した。まず、試料を 10 mM メチレンブルーとし、内径 1 mm のフローセルを用いて試料注入量 50  $\mu$ L とした場合の吸光度の経時変化をそれぞれの流量について図 1 に示した。図のように、流量の減少に伴い吸光度は増大し、そこで得られるメチレンブルーの吸収スペクトルは明瞭だった。また、吸収は時間とともに減少し、連続的な測定が可能であった。図 2 に内径、注入量、流量についてまとめた結果を示した。

この結果から、全ての結果において流量増加に対して吸光度が低下した。また、内径が細い方が流量に対して吸光度が安定であることがわかった。特に 0.2 mm 直径のフローセルでは、100  $\mu\text{L}$  の試料量でも流量の影響を受けにくかった。

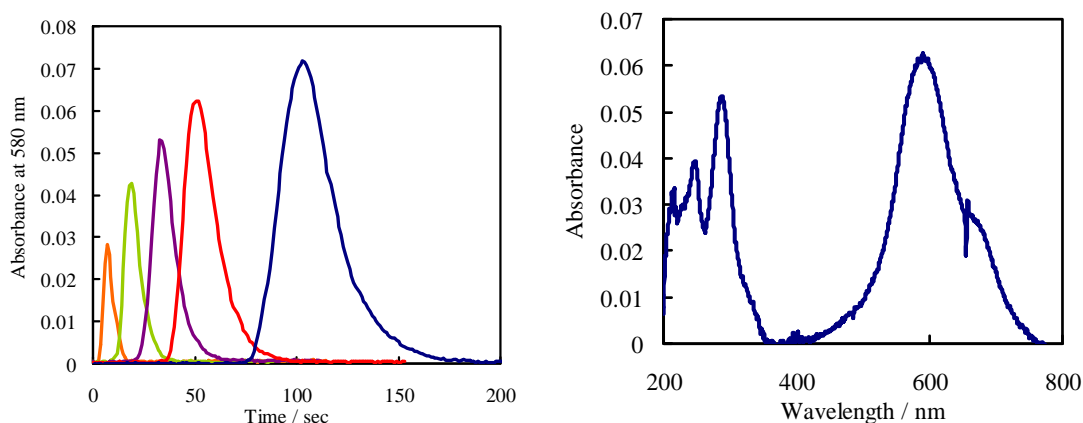


図1 (左) ATR センサーでの測定による 10 mM メチレンブルーの吸光度と流量 (左から 1, 0.5, 0.3, 0.2, 0.1 ml/min) の関係, 水:アセトニトリル = 50:50, 試料量: 100  $\mu\text{L}$  (右) 得られたメチレンブルーの ATR 吸収スペクトル

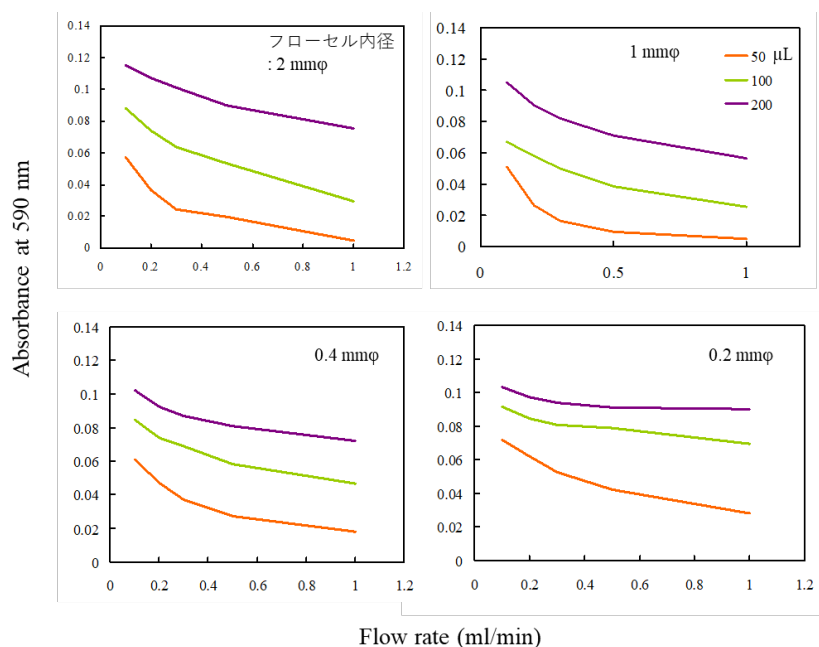


図2 各フローセル内径ごとの流速, 試料量, 吸光度の関係 (水:アセトニトリル = 50:50)

#### 4.3 LPFG によるオンライン分析

前述の ATR センサーと同様に, LPFG を T 字コネクタに挿入することでフローセルを作製し, 流量, 注入試料量について検討した結果を図 3 に示した。この結果から, フロー系において LPFG は流体の屈折率変化を連続的に検出でき, 得られるシグナルが ATR と同様に流量の影響を受けることがわかった。図 4 に光強度変化とセル内径, 流速, 試料量の関係を示した。セル内径が 1 mm では試料量の影響を著しく受けているが 0.4 mm では 50  $\mu\text{L}$  以上で光強度変化はほぼ頭打ちとなった。ATR では分析物の吸着が検出のための要因であることから, センサーを通過する時間の影響も受けていたことが考えられ, LPFG ではその影響がなかったと推測できる。この LPFG を用いてスクロースの検量線を作製したところ, 5~20% 濃度範囲で直線性が得られた。しかし, 検出限界は%オーダーに留まった。この測定系にカラムを接続し, シュウ酸 100 mM を注入したが検出には至らなかった。本測定系では, 広帯域で解析可能な汎用の近赤外用分光検出器を用いて測定を行った。一般に LPFG では検出器として光スペクトラムアナライザーなどが用いられる。これによりきわめて狭帯域での減衰波長のシフトを検出でき, 一般的な製品の分解能は本研究で使用したものに比べて 100 倍以上である。このことから, 本検討により波長と応答速度, 減衰光強度の関係が明らかになっており, これらを踏まえた測定装置

の最適化が必要であると言える。

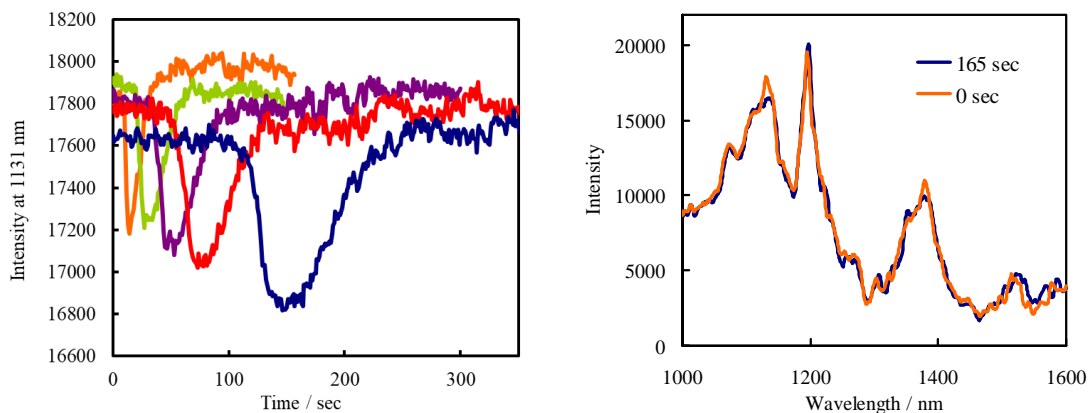


図3 (左) 20%スクロースの LPFG への光応答と流量 (左から 1, 0.5, 0.3, 0.2, 0.1 ml/min) の関係, フローセル内径 0.4 mm, 試料量: 100  $\mu$ L (右) 流量 0.1 ml/min における強度スペクトル変化

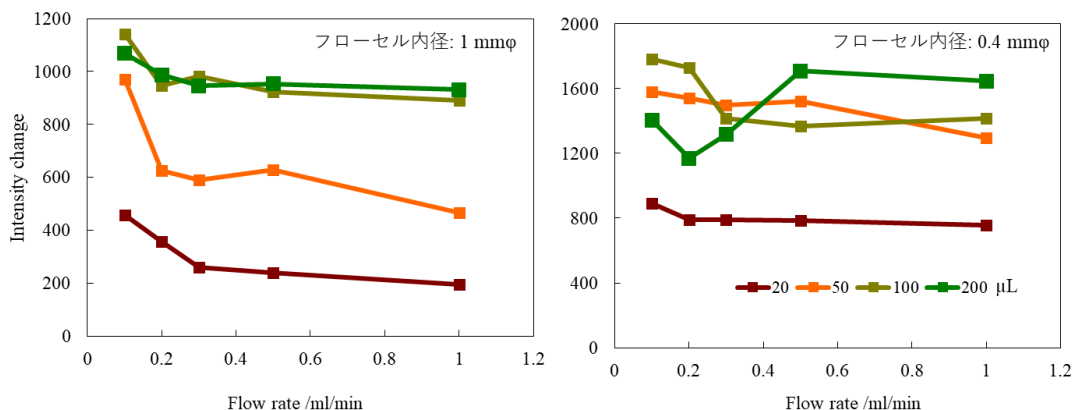


図4 フローセル内径 1 mm および 0.4 mm における流速, 試料量, 吸光度の関係

#### 4.4 ATR センサーによる分離分析

前述の ATR センサーシステムにカラムを組み込み, メチレンブルーとニューメチレンブルーの混合溶液を測定した。ニューメチレンブルーはメチレンブルーに疎水基が付加された構造を持つ。溶離液は, 水: アセトニトリル比が 50:50, 70:30, 80:20, 90:10 について検討したが, アセトニトリルが多い場合ではピークが得られず, 水が多い場合ではテーリングによって分離できなかった。中でも 80:20 ではわずかなテーリングの中にピークの分離が確認できた (図5)。しかし UV 検出器に比べると感度は低かった。本研究では, 非常に多くの物質を対象として検出を試みたが, 本法で検出できる物質は少ないことは, 限りなく高い選択性で分析対象物を検出できることに繋がる。すなわち, アセトニトリル中でも石英ファイバー表面へ吸着する正電荷と疎水性, 紫外可視における吸収波長, C18 カラムでの保持時間といった要因が分析へ高い選択性をもたらすだろう。

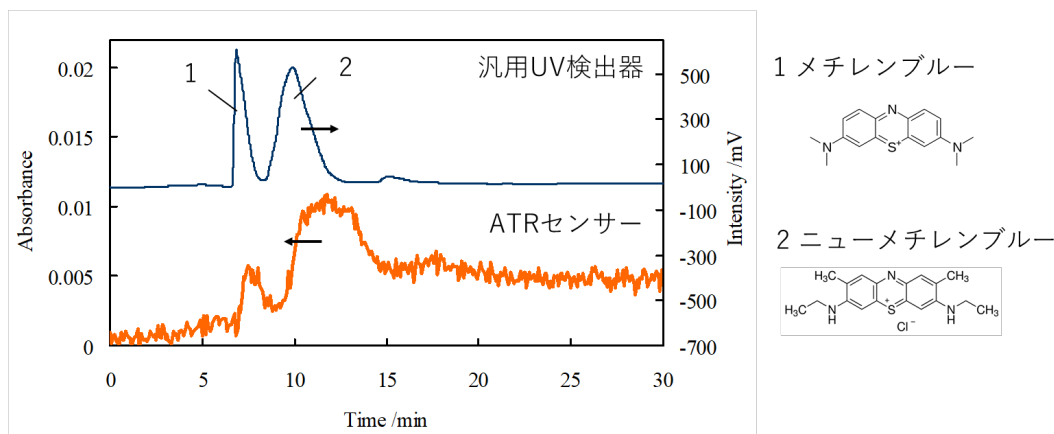


図5 0.3 mM メチレンブルーおよびニューメチレンブルーの測定結果，水：アセトニトリル=50:50，流速：1 ml/min，フローセル内径：200  $\mu$ m，試料量：100  $\mu$ L，カラム：C18

#### 4.5 シランカップリングによる表面改質の検討

ATR センサーの反応性について調査したところ，メチレンブルーなど正帯電の比較的水性分子のみが検出できることがわかり，これは石英ファイバー表面の水酸基に起因した吸着によるものと説明できる。そのため，表面改質によって一般的に検出される多環芳香族炭化水素などの疎水分子を検出できると考えた。そこで，トリメトキシオクチルシランによるシランカップリングを利用して表面に疎水基であるオクチル基の修飾を行った。その結果，10 mM のナフタレンを検出でき，ピーク 254 nm の明瞭なスペクトルが得られた。しかし，その後メチル基，フェニル基，オクタデシル基についても検討したが，オクチル基も含めそれぞれの検討に対して再現性が得られなかった。修飾方法については湿式法，乾式法を検討したが同様だった。乾式法では，ファイバーが細く円筒状であるため，シランカップリング剤が表面で保持できないことが影響したと思われる。また，修飾したファイバー片のアーク融着処理などの手順で改質効果が損なわれている可能性も示唆された。

#### 4.6 まとめ

本研究では，光ファイバーセンサーを組み込んだクロマトグラフィーについて検討した。センサーは ATR 法に基づく多波長検出と屈折率検出を可能とする LPFG について検討した。ATR センサーでは紫外可視で利用できるセンサーの最適化を行った。HPLC 装置の流路にそれぞれのセンサーを組み込み，センサーの性能と流路や試料量，流量について検討した。ATR センサーでは，メチレンブルーとニューメチレンブルーの疎水性の違いによる分離分析に成功した。一方で，溶離液の極性変化が ATR 法における分子吸着量の低下を引き起こし，実用的な感度レベルには到達できなかった。以上のことから本研究の光ファイバーセンサーとクロマトグラフィーシステムは当初目的とした現場での分析に耐えうる性能には至らなかったが，センサーのフローインジェクション分野への展開，すなわち水系における分析物の呈色反応と吸光度の測定による連続定量などといった発展に対する基礎検討の成果となった。今後はこれらの成果を活かし，環境水質の簡易的な自動連続分析法の開発に取り組む予定である。

#### 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 8 件)

1. T. Okazaki, Eri Shiokawa, T. Orii, T. Yamamoto, N. Hata, A. Taguchi, K. Sugawara, H. Kuramitz, *Analytical Chemistry*, 90, 2440-2445, 2018.
2. S. Mushahida-Al-Noor, R. Murashima, T. Okazaki, S. Taguchi, H. Kuramitz, N. Hata, *Analytical Sciences*, 34, 1445-1448, 2018.
3. Sultana, K. Sazawa, T. Okazaki, M. S. Islam, N. Hata, K. Sugawara, H. Kuramitz, *Electroanalysis*, 30, 2265-2272, 2018.
4. S. Y. Tan, S. C. Lee, T. Okazaki, H. Kuramitz, F. A. Rahman, *Optics Communications*, 419, 18-24, 2018.
5. T. Okazaki, T. Yamamoto, A. Taguchi, A. Ueda, H. Kuramitz, *IEEE Sensors Letters*, 1, 2000104 (1-4) 2017.

6. T. Okazaki, T. Orii, A. Ueda, A. Ozawa, H. Kuramitz, Scientific Reports, 7, 3387-1-7, 2017.
7. T. Okazaki, T. Orii, A. Ueda, H. Kuramitz, IEEE Sensors Journal, 17, 1207-1208, 2017.
8. T. Orii, T. Okazaki, N. Hata, K. Sugawara, F. A. Rahman, H. Kuramitz, Analytical Sciences, 33, 883-887, 2017.

〔学会発表〕(計 16 件)

1. T. Okazaki, E. Shiokawa, N. Hata, A. Taguchi, K. Sugawara, H. Kuramitz, Simultaneous Multiselective Spectroelectrochemical Fiber- Optic Sensor, Pittcon 2018, Philadelphia, USA, March 17-21, 2019.
  2. T. Okazaki, T. Orii, A. Ueda, H. Kuramitz, Fiber Optic Sensor for Real-Time Sensing of Silica Scale Formation in Geothermal Water, RSC Tokyo International Conference 2017, Chiba, September 8-9, 2017.
  3. H. Kuramitz, T. Orii, T. Okazaki, N. Hata, A. Taguchi, K. Sugawara, Fiber Optic Sensor Based on Electrochemical-Localized Surface Plasmon Resonance, RSC Tokyo International Conference 2017, Chiba, September 8-9, 2016.
  4. T. Okazaki, T. Orii, A. Taguchi, N. Hata, S. Taguchi, Y. T. Yong, F. A-Rahman, H. Kuramitz, Electrochemical long-period fiber grating sensor, RSC Tokyo International Conference 2016, Chiba, September 8-9, 2016.
1. 岡崎 琢也, 田口 明, 上田 晃, 倉光 英樹, 公益社団法人日本セラミックス協会第 31 回秋季シンポジウム, 9 月 5 - 7 日, 2018 .
  2. 岡崎 琢也, 瀬戸 龍一, 倉光 英樹, 上田 晃, 梅木 千真, 日本地熱学会平成 30 年東京大会, 東京都北区, 11 月 14 - 16 日, 2018 .
  3. 小濱 望, 佐澤 和人, 波多 宣子, 倉光 英樹, 田口 茂, 岡崎 琢也, 日本分析化学会第 67 年会, 宮城県仙台市, 9 月 12 - 14 日, 2018 .
  4. 桑名 李沙, 岡崎 琢也, 佐澤 和人, 波多 宣子, 田口 明, 菅原 一晴, 倉光 英樹, 2018 年電気化学秋季大会, 石川県金沢市, 9 月 25 - 26 日, 2018 .
  5. 山本 高一路, 岡崎 琢也, 織井 達也, 波多 宣子, 田口 茂, 菅原 一晴, 倉光 英樹, 日本分析化学会第 77 回分析化学討論会, 京都府京都市, 5 月 27 - 28 日, 2017 .
  6. 加藤 千央, 岡崎 琢也, 山本 高一路, 佐澤 和人, 波多 宣子, 倉光 英樹, 平成 29 年度北陸地区講演会と研究発表会, 石川県能美市, 12 月 1 日, 2017 .
  7. 桑名 李沙, 岡崎 琢也, 山本 高一路, 佐澤 和人, 波多 宣子, 田口 明, 菅原 一晴, 倉光 英樹, 平成 29 年度北陸地区講演会と研究発表会, 石川県能美市, 12 月 1 日, 2017 .
  8. 岡崎 琢也, 織井 達也, 田口 明, 波多 宣子, 田口 茂, 倉光 英樹, 日本分析化学会第 65 年会, 北海道札幌市, 9 月 14 - 16 日, 2016 .
  9. 塩川 恵理, 織井 達也, 岡崎 琢也, 波多 宣子, 田口 茂, 田口 明, 菅原 一晴, 倉光 英樹, 平成 28 年度北陸地区講演会と研究発表会, 福井県福井市, 11 月 25 日, 2016 .
  10. 坂口 亜弥, 上田 晃, 織井 達也, 岡崎 琢也, 梅木 千真, 電磁処理による松代温泉水からの炭酸カルシウムスケールの沈殿防止研究, 日本地熱学会 平成 28 年郡山大会, 福島県郡山市, 10 月 19 日 - 21 日, 2016 .
  11. 織井 達也, 岡崎 琢也, 波多 宣子, 田口 茂, 田口 明, 菅原 一晴, 倉光 英樹, 北海道札幌市, 9 月 14 - 16 日, 2016 .
  12. 山本 高一路, 織井 達也, 岡崎 琢也, 波多 宣子, 田口 茂, 菅原 一晴, 倉光 英樹, 日本分析化学会第 76 回分析化学討論会, 岐阜県岐阜市, 5 月 28 - 29 日, 2016 .

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

取得状況 (計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等 なし

6. 研究組織

研究分担者および協力者なし

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。