

令和 5 年 6 月 20 日現在

機関番号：13904

研究種目：挑戦的研究(萌芽)

研究期間：2021～2022

課題番号：21K18687

研究課題名(和文) ガラスキャピラリー電極を用いた局所イオン濃度場の測定

研究課題名(英文) Measurement of local ion concentrations using glass capillary electrodes

研究代表者

土井 謙太郎(Doi, Kentaro)

豊橋技術科学大学・工学(系)研究科(研究院)・教授

研究者番号：20378798

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 5,000,000円

研究成果の概要(和文)：濃度測定を可能とするガラスキャピラリー電極の性能を確かめるため、オリフィス状の検査体積を持つ測定容器に電解質溶液を満ちし、キャピラリー電極を走査して導電率を解析した。KCl溶液を用いた結果、1～100 mmol/Lの濃度について誤差5%未満の精度が確かめられた。イオン電流環境下において液中の局所的な電位差を直接的に測定することからキャリブレーションを必要としない新しい測定手法といえる。さらに、ガラス管3本を束ねて伸長した3連管のガラスキャピラリー電極を作製し、pH標準液を用いて水素イオン濃度の測定を行った。電流に対する電位差の非対称性が見られ、整流比からpHの差が定量的に評価された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究で開発したガラスキャピラリー電極は、ガラス管を伸長してその先端径を数100 nmに絞り込んだものであり、液中を走査することで局所的な電場や濃度場を測ることができる。これまで困難と考えられてきた電極から離れた沖合の電場を直接的に測定することが可能となり、理論的に求められてきた電場の空間分布が実験的にも明らかにされたことは学術的に有意義である。また、寸法が既知の検査体積を走査するため、事前の較正を必要とすることなく、試料液の濃度を直接的に評価することを可能とする新しい測定手法といえる。さらに、3連管の電極を作製することで局所的なpH測定も実現され、各種イオン濃度測定への発展が期待される。

研究成果の概要(英文)：In this study, in order to confirm the measurement accuracy of the glass capillary electrode, a reservoir with an orifice-like test section was filled with an electrolyte solution, and the glass electrode was scanned along the test section to analyze the electrical conductivity. As a result of using KCl solutions, the accuracy of the measurement error of less than 5% was confirmed for the concentrations ranging from 1 to 100 mmol/L. It is a novel measurement method that does not require calibration because it directly measures the local potential difference in the liquid under an ionic current condition. In addition, we fabricated a triple-barrelled glass capillary electrode by bundling three glass tubes together and measured proton concentration using pH standard solutions. The asymmetry of the potential difference with respect to the ionic current was observed, and the pH difference was quantitatively evaluated from the rectification ratio.

研究分野：マイクロ・ナノ熱流体工学

キーワード：ガラスキャピラリー電極 イオン輸送現象 イオン濃度 pH イオンダイオード

## 1. 研究開始当初の背景

近年、微小空間に閉じ込められた液中におけるナノ粒子、分子、イオン等の輸送現象の解明と応用に関する研究開発が注目を集めている。マイクロミキサー、マイクロリアクター、一分子解析技術等が知られるところであるが、さらに、固体と液体の表面や界面における微視的スケールの輸送現象についても調べられるようになってきた。土井らは、これまで微視的スケールの輸送現象に関する理論解析および実験を行ってきており、最近では、イオン交換膜を透過させた電解質溶液に電場を印加することで電気流体力学流れを生成し、世界で初めて約 2 V の印加電圧で水系溶媒の駆動に成功した (K. Doi et al., *J. Phys. Chem. B* 8, 228-237 (2015); K. Doi et al., *J. Chem. Phys.* 148, 204512 (2018))。一方、電気化学の常識では、バルクの液中では至るところ電気的中性条件が成り立つと考えられることから、特定のイオンが流動を引き起こすことはあり得ないとされてきた。電気流体力学流れの可視化観察の結果から、流動が生じるために必要なイオン濃度は 1  $\mu\text{mol/L}$  未満の希薄であることが理論的に見積もられたが (K. Doi et al., *J. Chem. Phys.* 148, 204512 (2018))、現在の計測技術では、そのような低濃度環境下におけるイオン濃度測定は容易ではない。そこで、本研究課題では、局所的で希薄なイオン濃度を測定するため、独自の測定法を提案するに至った。学際融合分野の研究課題であり、異分野間で未だ共通の理解が得られていない部分が見受けられるが、本研究においてさらなる学術的深化を目指す。

## 2. 研究の目的

本研究は、任意イオン種の濃度測定および局所濃度場の評価を可能とするガラスキャピラリー電極の作製を目的とする。ガラスキャピラリー電極とは、ガラス管を伸長してその先端が 100 nm 程度の細孔となる針状のものに、電解質を含む緩衝液を充填し、さらに銀塩化銀線を挿入したものである。先端径が 100 nm 程度の細孔になると、内液と外液の混合を抑制して定常的な濃度差を維持することができることから液中の局所的な濃度場の測定が可能になる。この特徴的な構造を利用し、液中におけるイオン濃度を個別測定する新奇なイオン電極の原理を創出する。ガラスキャピラリーはひとつのナノ流路と考えることができることから、特有の界面動電現象を利用することにより、イオン種の識別可能性が期待される。一般に、ガラスキャピラリーは、微量液体サンプルの採取・滴下、デオキシリボ核酸 (DNA) の電気泳動、細胞の固定や活動電位を測定するための電極として使われるものであるが、本研究では、ガラスキャピラリーをナノ流路とみなし、液中の局所的なイオン濃度や pH を測定するための電極として使用する。

## 3. 研究の方法

外径約 1 mm のガラス管をプーラーで伸長し、先端が細孔となる針状のキャピラリーを作る。その先端径は数 100 nm の円柱状のナノ流路となり、ナノ流路特有の界面動電現象を利用することができる。一般に、ガラス表面はシラノール基 (Si 表面に OH 基が付いたもの) で覆われているため、電解質溶液中で負に帯電する特徴があり、液中のガラス表面近傍には陽イオンが集中して電気二重層が形成される。たとえば、1 mmol/L の塩化カリウム (KCl) 溶液中において、表面が (室温を電位に換算した程度の)  $-25.7\text{ mV}$  に帯電しているとする場合、理論的には、約 10 nm の電気二重層とその外側に濃度勾配のある拡散層が形成されると考えられる。特に、直径が 100 nm 程度のナノ流路の場合、対向する壁面間で拡散層が重なる程度となり、陽イオンの輸送が現象を支配すると考えられる。このとき、キャピラリーに沿って電圧を印加すると、陽イオンの輸送が支配的となるイオン電流が生じることから、陽イオン選択性が現れる。

本研究ではガラスキャピラリーの特徴を活かし、液中の電解質イオンの濃度分布測定を試みる。ガラスキャピラリーに 0.1 mol/L KCl を充填し、そこに 0.3 mm の銀線を次亜塩素酸ナトリウム水溶液に浸漬して一部を塩化銀とした銀塩化銀線をキャピラリーに挿入したものをガルバのスタットの参照極とする。作用極と対極には銀塩化銀線をつなぎ、液中に一定の電流を維持した状態で、電解質液で満たされた検査体積をガラスキャピラリー電極で走査して作用極との電位差を測定する。電位差の勾配を取り、一様電場であることを確認して濃度一定の場における Ohm の法則より導電率が導出される。ここではまず、濃度が既知の KCl 溶液を用いて濃度場の測定精度を調べることにより、ガラスキャピラリー電極の性能を検証する。

さらに、ガラスキャピラリーを 2 連管または 3 連管とし、充填する液の成分を調製することにより、特定の陽イオン濃度を測定する。2 本 (3 本) のガラス管が束になった 2 連管 (3 連管) のガラス管をプーラーで伸長し、同じく先端径が 100 nm 程度の 2 連 (3 連) キャピラリーを作製することができる。一例として、一本のキャピラリーに 0.1 mol/L KCl と pH 1.68 の緩衝液を充填し、他のキャピラリーには、0.1 mol/L KCl 溶液のみを充填し、各キャピラリーに銀塩化銀線を挿入したものを電極とする。これを用いて、試料液の電流電圧特性を調べると、印加する電流の正負に対して非対称な電位差応答が得られる。これは、キャピラリーの内外に濃度差があり、濃度の高い内液から低い外液へは拡散する力が働くが、外液から内液への輸送は濃度勾配に逆らって抵抗が大きくなるためと推察される。キャピラリーを介した内液と外液の  $\text{H}^+$  の濃度差が電気抵抗として測定されることから、外液の  $\text{H}^+$  濃度を導出することができる。ここでは、 $\text{H}^+$ イ

オンを例に挙げたが、試料液に含まれる成分と濃度に対して、キャピラリー内部の組成を調整することにより、試料液の任意の陽イオン濃度を調べることができる。

#### 4. 研究成果

まず、自作したガラスキャピラリー電極の性能を検証するため、濃度が既知の電解質溶液を用いて実験を行った。当初、ガラスキャピラリーの先端径を 100 nm 程度に絞ることを想定していたが、本研究で用いたガラス管プラーでは、キャピラリー先端の内径が小さくても 500 nm 程度となったため、キャピラリー先端にアガロースゲルまたはポリエチレングリコールを充填することにより、内液と外液の接触を極力抑えるように工夫した。図 1 に示すように、リザーバと検査体積からなる測定容器に濃度が既知の KCl 溶液を満たし、リザーバにガルバノスタットの作用極と対極につながれた銀塩化銀線を設置して 1  $\mu$ A または 10  $\mu$ A の一定電流を印加して維持した。そこに、参照極につながれたガラスキャピラリー電極の先端を液に接触させ、自動ステージを用いて検査体積に沿って一定間隔で走査しながら作用極との電位差を記録した。試料液として、 $5.6 \times 10^{-4}$ ,  $1.0 \times 10^{-2}$ ,  $1.0 \times 10^{-1}$  mol/L KCl 溶液を用いた。導電率は温度依存性が強く、試料液の温度を一定に保つため、液で満たされた容器の裏面に放熱用のグリースを塗り 30  $^{\circ}$ C に設定したホットプレート上に固定した。作用極と対極間の電位差と導電率の関係を明らかにするため、リザーバと検査体積の形状が異なる 3 通りの構造を用意した。詳細については文献 (T. Kishimoto et al., ACS Omega 7, 39437-39445 (2022)) を参照されたい。ガラスキャピラリー電極を検査体積に沿って電位差を測定した結果、いずれの構造についても濃度に依らず、検査体積において電位差が一定、つまり、一様電場が存在していることが確認された。これより、検査体積内部は、 $K^{+}$  と  $Cl^{-}$  の電解質イオンの濃度が一定であり、そこに一様電場が印加されていることから、液中においても Ohm の法則に従って電流と電位差が比例することが確かめられた。このことについては、電解質イオンの輸送を表す Nernst-Planck 方程式、電荷密度と静電ポテンシャルの関係を表す Poisson 方程式、流体の輸送を表す Navier-Stokes 方程式を連立して解析した結果からも確認されている。このように、先端を絞ったガラスキャピラリー電極を用いた局所計測により、これまで計算結果として示されてきた電解質溶液中の濃度と電位差の空間分布が実験的に明らかにされたことは重要である。3 通りの測定容器のうち最適な条件において、一定電流条件下における電位差測定から導出された導電率と誤差を表 1 に示す。試料液として用いた  $5.6 \times 10^{-4}$ ,  $1.0 \times 10^{-2}$ ,  $1.0 \times 10^{-1}$  mol/L KCl 溶液について得られた導電率は、3 回の試行の平均としてそれぞれ  $9.5 \times 10^{-3}$ ,  $1.554 \times 10^{-1}$ ,  $1.408$  S/m となり、文献値との誤差はそれぞれ 3.7, 0.4, 0.3% となった。これより、高濃度側から  $1.0 \times 10^{-2}$  mol/L の濃度までは誤差 0.5% 未満の精度があり、 $1 \times 10^{-3}$  mol/L の程度では誤差 4% 未満の精度であることがわかった。本研究結果は、先行研究 (K. Doi et al., Sci Rep. 10, 4110 (2020)) をもとに改良を加えて得られたものであるが、ガラスキャピラリー先端にアガロースゲルやポリエチレングリコールを充填して内液と外液のイオン交換を極力抑制することと、検査体積への電界集中を強めることの重要性が改めて確認された。さらに希薄濃度の測定を試みたため、対流、濃度勾配、液の蒸発による濃度変化の影響により誤差が拡大する傾向が明らかとなったため、測定容器の改良を検討することとなった。本研究で作製したガラスキャピラリー電極による電解質イオンのさらなる希薄濃度の測定は今後の発展的課題とするところである。

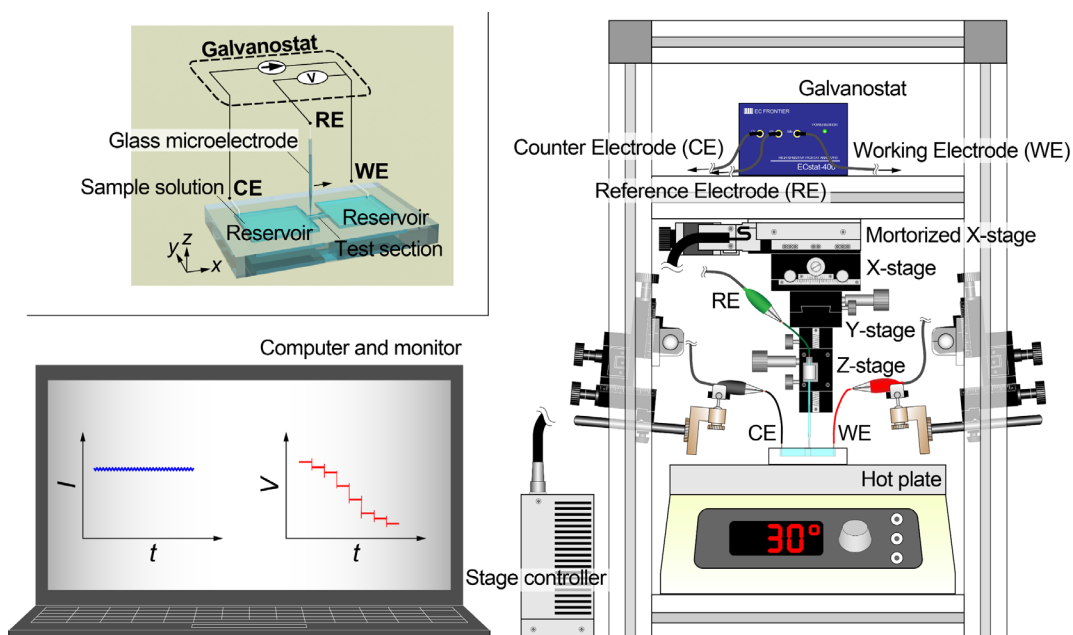


図 1. ガラスキャピラリー電極で試料液を走査して電位差を測定するための実験系の模式図 (T. Kishimoto and K. Doi, ACS Omega 7, 39437-39445 (2022)).

表 1. 試料液の KCl 濃度に対して実験より導出された導電率の値と誤差 (T. Kishimoto and K. Doi, ACS Omega 7, 39437-39445 (2022)).

KCl 濃度 [mol/L]	導電率 [S/m]	試行回数 [1]	誤差 [%]
$5.6 \times 10^{-4}$	$(9.5 \pm 0.2) \times 10^{-3}$	3	3.7
$1.0 \times 10^{-2}$	$(1.554 \pm 0.045) \times 10^{-1}$	3	0.4
$1.0 \times 10^{-1}$	$1.408 \pm 0.058$	3	0.3

一方、イオン濃度に関するワイドレンジの測定対象として液中のプロトン濃度 (pH) は良い例であり、本研究においてガラスキャピラリー電極を用いた希薄濃度測定の実験を行い実現可能性について考察する。ここでは、ガラス管を 3 本束ねて伸長した 3 連管のガラスキャピラリーを用いた。そのうちの一本に pH 1.68 のシュウ酸塩標準液と 0.1 mol/L KCl を 1:1 に混合したもの、他の 2 本には 0.1 mol/L KCl 水溶液を充填した。各キャピラリー先端には 0.1 mol/L KCl 溶液を用いて調製したアガロースゲルまたはポリエチレングリコールを充填してイオン輸送を抑制した。各ガラスキャピラリーに銀塩化銀線を挿入し、pH 標準液を含むキャピラリーを対極、KCl 溶液を含むキャピラリーを作用極と参照極とした。当初、参照極と対極をひとつのキャピラリーで共有していたが、測定時のノイズと電位差のドリフトが顕著となったため、両者を個別のキャピラリーに分けることとした。さらに、試料液として pH 1.68, 4.01, 6.86, 8.00, 9.18 の標準液を用い、3 連管のガラスキャピラリー電極を試料液に挿入し、ガルバノスタットを用いて一定電流条件下で電位差を測定した。実験結果の一例を図 2 に示す。図 2(a) は、設定した電流値に対する出力の電位差である。ここで、正の電流値では作用極の電位が対極の電位に対して高く、負の電流値では電位差が逆転していることを意味する。電流値が正の場合、試料液の pH によって電位差に明確な差が現れることがわかる。一方、負の電流値に対しては、試料液の pH に依らずほぼ一定の電位差が得られた。この結果より、電流値が正のとき、すなわち、作用極の電位が対極の電位に対して高いとき、pH 試料液から対極のガラスキャピラリーへ  $H^+$  イオンが電気泳動により進入し、ガラスキャピラリー内部の  $H^+$  イオンは電極のマイナスに引かれるように移動するため、 $H^+$  イオンとしては低濃度側から高濃度側に輸送されることを意味する。その結果、ガラスキャピラリーの内液と試料液との界面で  $H^+$  イオン濃度が低下してイオン電流に対する抵抗が増大したと考えられる。支持電解質として KCl が含まれており、電極での電気化学反応を含めて安定した電流を生成できる環境ではあるが、 $H^+$  イオンの濃度勾配の向きが電位差に影響したと考えられる。一方、負の電流では、 $H^+$  イオンの高濃度側から低濃度側への輸送となるため、pH の差による電位差の変化が小さい。一定電流を  $\pm 0.5$  nA とした場合、試料液の pH に対する電位差を図 2(b) に示す。正の電流値について、試料液の pH の増加に伴って電位差が単調増加していることがわかる。直線近似すると 448 mV/pH の分解能となり、平衡状態の Nernst の式より求められる値 59.6 mV/pH に比べて約 7.5 倍高い値となっている。特徴的なのは、酸性の試料のみならず pH が 7 を超えるアルカリ性の試料についても電位差の増加が見られることで、 $1 \times 10^{-7}$  mol/L 以下の極希薄な  $H^+$  イオン濃度であっても識別可能となっていることである。今回使用したガラスキャピラリーの先端径は数 100 nm であり、ガラス表面の電気二重層によるイオン選択性を示すには大きすぎるが、アガロースゲルまたはポリエチレングリコールで先端の抵抗を増大させ、さらに pH 1.68 の標準液をガラスキャピラリーの内液に充填することで  $H^+$  イオンの選択性を実現することができたと考えられる。このことはつまり、ガラスキャピラリー先端と試料液の界面を上手く調整することにより、ガラス特有のプロトン選択性に依存することなく、任意のイオンについて識別可能性を示唆するものである。今後は、本研究成果をもとに他イオンについても同様の測定を行い、極希薄濃度におけるイオン種の識別可能性について調べていく。

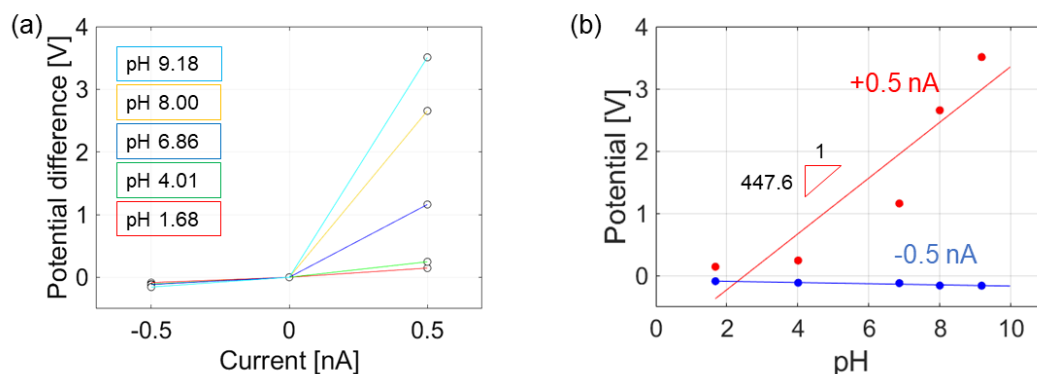


図 2. (a) pH 試料液に対して一定電流を印加した場合の電位差と (b) pH に対する電位差。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Tatsunori Kishimoto, Kentaro Doi	4. 巻 7
2. 論文標題 Local Electric Field and Electrical Conductivity Analysis Using a Glass Microelectrode	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 ACS Omega	6. 最初と最後の頁 39437 ~ 39445
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1021/acsomega.2c05973	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計8件（うち招待講演 2件/うち国際学会 2件）

1. 発表者名 Tatsunori Kishimoto, Kentaro Doi
2. 発表標題 Development of Microscale pH Sensor Using Ionic Current Rectification
3. 学会等名 19th International Conference on Flow Dynamics (ICFD2022)（国際学会）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 岸本龍典, 安藤東生, 土井謙太郎
2. 発表標題 微小ガラス電極による電解質溶液の導電率と温度依存性の定量評
3. 学会等名 日本機械学会第13回マイクロ・ナノ工学シンポジウム
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 岸本龍典, 土井謙太郎
2. 発表標題 局所場電場計測による導電率の直接評価手法の確立
3. 学会等名 日本機械学会2022年度年次大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 K. Doi and T. Kishimoto
2. 発表標題 Theoretical and Experimental Approaches to Ionic Diode Characteristics of Nanochannels
3. 学会等名 18th International Conference on Flow Dynamics (ICFD2021) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 土井謙太郎
2. 発表標題 微視的輸送現象のイオン計測
3. 学会等名 第34回マルチモーダルバイオイメージセンサ研究会 (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 土井謙太郎
2. 発表標題 微小ガラス電極を用いた局所電場計測による導電率の評価
3. 学会等名 日本機械学会2021年度年次大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 長谷川源, 山崎嘉己, 土井謙太郎, 川野聡恭
2. 発表標題 マイクロガラス電極による局所的流動場の計測
3. 学会等名 日本機械学会2021年度年次大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 土井謙太郎
2. 発表標題 微視的流動現象のイオン計測とその展開
3. 学会等名 日本機械学会RC286第2回分科会（招待講演）
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

TUT環境熱流体工学研究室 <a href="http://www.me.tut.ac.jp/tfe">http://www.me.tut.ac.jp/tfe</a>
--

6. 研究組織		
氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------