

機関番号：82706

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2009～2010

課題番号：21710024

研究課題名（和文） 二次元 pH センサの開発と海底における pH プロファイルの可視化手法の確立

研究課題名（英文） Developments of a two dimensional pH sensor and its visualization method for in situ measurements in aquatic environments.

研究代表者

小栗 一将 (OGURI KAZUMASA)

独立行政法人海洋研究開発機構・海洋・極限環境生物圏領域・技術研究主任

研究者番号：10359177

研究成果の概要（和文）：

堆積物－水境界における pH 分布を可視化するため、(1)二次元 pH センサの開発、(2)蛍光を自動的に時系列測定する装置の開発、(3)海底における現場型観測装置の開発を行った。その結果、(1) alpha-Naphtholphthalein と Tetrphenylporphyrin をバインダに溶かしたセンサを試作し、半定量的な pH の二次元分布を可視化した。(2)センサの評価を行うための、蛍光の自動取得システムを開発した。(3)深海底の現場において、pH や酸素などの二次元プロファイルを測定する装置を開発し、相模湾・初島の海底において設置試験を行い、運用における安定性を確認した。

研究成果の概要（英文）：

In order to visualize pH distributions at sediment-water interface (SWI), two-dimensional pH sensor was developed. The sensor foil was fabricated alpha-Naphtholphthalein and Tetrphenylporphyrin immobilizing into a binder. Using with newly developed automatic image acquisition system and the sensor foil, semi-quantified pH image across SWI in an aquarium was obtained. For deep-sea application of the sensor, pH (or O₂) profiling system was developed. This system was evaluated at the cruise and the stability during the deployment was confirmed.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	2,900,000	870,000	3,770,000
2010年度	800,000	240,000	1,040,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,700,000	1,110,000	4,810,000

研究分野：環境学

科研費の分科・細目：環境学・環境動態解析

キーワード：pH、可視化、堆積物－水境界

1. 研究開始当初の背景

堆積物－水境界における pH 分布は、全炭酸濃度を間接的に反映する指標であるため、炭素循環の理解のため、海底や干潟などにおける微小 pH プロファイルの測定が古くから行われてきた。この結果、一般的な海底では、

pH は酸素が枯渇する深度付近で最小値をとるが、それ以深では次第に上昇することが明らかになった。これは、pH が最小値を示す部分で最も活発に有機物が好気分解を起こし、全炭酸の発生も多いことを示している。このような測定には、先端径数十 μm の微小

電極が使われてきたが、(1)非常にデリケートな水素イオン選択ガラスを先端に使用するため、砂粒サイズの粒子に当たると容易に破損する。(2)電源環境や温度変化の影響を受けやすく、値のドリフトが大きい。(3)測定対象(堆積物が入ったコアなど)が帯電すると正確な値を示さず測定に支障をきたす、といった問題があった。また、実際の海底では、底生生物活動が存在するため、生元素の分布は不均質であることが指摘されてきた。

これらの問題を解決し、より正確な pH 分布を得るためには、pH の違いによって蛍光強度や光の吸収が変化する色素を使ったセンサを平面化し、CCD カメラや励起光源との組み合わせによって、pH の二次元プロファイルを測定する必要がある。これまでに、このようなセンサを用いて実験室の水槽に設置した疑似海底や干潟堆積物などに適用した例はいくつか存在するが(Hulth et al., 2002; Zhu et al., 2005; Zhu et al., 2006; Stahl et al., 2006; Schreml et al., 2010)、色素の溶出や、作成に専門知識が必要などの問題があり、いまだ発展途上の技術となっていた。

2. 研究の目的

本研究では、(1)これまでの二次元 pH センサの欠点を克服し、色素の溶出が無く、かつ、製作が容易な二次元 pH センサを開発する、(2)実験室において pH などの分布をイメージングするための装置を開発し、pH センサの特性を評価し、あるいは水槽中の疑似海底の pH 分布を測定するために用いる。(3)深海の現場において pH プロファイルを測定するための、現場測定装置を開発し、実際の海底で運用を行う、ことを目的とする。

3. 研究の方法

堆積物-水境界における pH 分布を可視化するため、二次元 pH センサと、海底において測定を行うための装置の開発をそれぞれ行った。

(1) 二次元 pH センサの開発

海底現場においてセンサを使用することを前提とした二次元 pH センサの開発を行った。まず、従来の研究で用いられてきた蛍光色素(8-Hydroxypyrene-1,3,6-trisulfonic acid trisodium salt, HPTS)をエチルセルロース膜に溶解させたセンサを作成した。このセンサは海水中に浸すと HPTS が溶出し、海洋環境では使えないことが確認された。そこで pH センサのデザインを新たに行った。バインダから海水中に溶出せず、かつ、海洋環境中の pH 測定に適した指示薬を調べた結果、alpha-Naphtholphthalein (pKa≒7.6)が有望であることが判明した。ただし、この色素は蛍光を発せず、pH によって光の吸収率

が変化する「吸光型」であり、蛍光を出さない。そこで、Amao et al. (2005)に基づく透過型二酸化炭素センサに改良を加え、alpha-Naphtholphthalein と蛍光物質である Tetrphenylporphyrin (TPP) を混合した蛍光型 pH センサを開発した。作成方法は以下の通りである。alpha-Naphtholphthalein を Tetrabutylammonium Hydroxide、TPP と共にメタノール溶液に溶解させ、さらにこの混合物を、エチルセルロースを溶解させたトルエンに混合したものを、PET フィルム上に薄く塗布し、一晚乾燥させた。

このセンサは、アルカリ性下ではバインダに含まれる alpha-Naphtholphthalein が青色を呈するので、TPP が紫外線励起されて発する赤色蛍光は弱い、酸性化では alpha-Naphtholphthalein は無色となるため、TPP からの蛍光は吸収されず強い、という特徴がある。すなわち、センサを紫外線で励起することで得られる蛍光強度を測定することで、pH を得ることが可能である(写真1)。

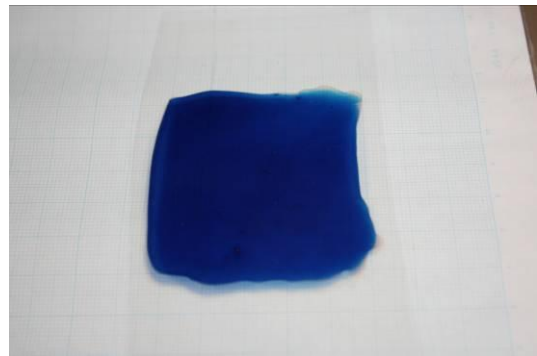


写真1. α -ナフトールフタレインと TPP を用いた蛍光吸収型 pH センサ。

(2) 蛍光測定装置の開発

pH センサが発する蛍光の時系列変化を測定するため、PCO 社の Modulation カメラ、Sensimod を用いた蛍光強度測定装置を開発した。Sensimod は、付属のソフトウェア Camware を用いることで pH センサが発する蛍光や、酸素センサが発する燐光画像を取得できるが、励起光源、シャッター速度とそのタイミングを制御するために、外部に制御回路が必要である。そこで、ナショナルインスツルメンツのプログラム開発環境 LabVIEW と、同社の FPGA ボード sbRIO-9601 を用い、Sensimod による蛍光強度測定装置を開発した。蛍光強度の時間変化を測定するためには、強度画像を一定間隔で取得する必要があるため、作業を自動化するために、UWSC を用いたスクリプトプログラムを作成した。これらの一連の装置とソフトウェアによって、蛍光強度の時間変化を全自動で取得できるようになった(写真2)。



写真 2. 開発した蛍光測定装置の信号発生装置。

(3) 海底における現場型観測装置の開発

pH センサを海底の現場で用いるため、測定系の一切を深海で運用するための装置を開発した。この装置は、市販のデジタルカメラ、紫外線励起光源と自作のシーケンス制御回路からなり、これらは耐圧容器内に収められている。容器の前面には潜望鏡が取り付けられており、潜望鏡の前面にセンサホイルが張り付けられる (写真 3)。実際の運用においては、潜望鏡が堆積物と水の境界面に位置するよう、無人潜水艇 (ROV) によって設置される。



写真 3. 初島沖で試験中の現場型観測装置。

この装置は ROV のペイロードに搭載された後、電源が入られる。その後、シーケンス制御回路に組み込まれたプログラムによって、一定間隔でセンサホイル面の蛍光画像が自動的に取得される。本研究中においては、海洋研究開発機構の「なつしま」NT10-19 相模湾沖航海において、装置の試運転が行われた。このとき、まだ pH センサは開発中であったため、Platinum octaethylporphyrin を使用した酸素センサ (小栗、特願) を搭載し、

堆積物-水境界における酸素濃度の可視化を試みた。

4. 研究成果

(1, 2) 二次元 pH センサと蛍光測定装置

完成した pH センサを二酸化炭素ガス内に封入したところ、約 1 分で alpha-Naphthol phthalein の青色が消失し、TPP の赤色が現れた。この結果より、pH センサとして使用できると期待されたが、6.8 から 9.2 の間の、様々な pH 緩衝溶液に浸し、蛍光測定装置を用いてそれぞれの蛍光強度変化を測定したところ、alpha-Naphtholphthalein や TPP の溶出は見られなかったものの pH6.8 における反応時間は 5 時間以上と非常に遅く、また、pH9.2 を除いたすべての溶液中のセンサについては、青色が消失するまで反応 (蛍光強度の増加) が続くことが分かった。また、pH の違いによって反応時間 (蛍光強度の増加速度) も異なることが明らかになった (図 1)。このため、このセンサは、pH 変化のない環境に設置した後、センサが発する蛍光強度の時間変化を測定、その結果から pH を求めるという手法によって、1 回に限り定量が可能であることが分かった。

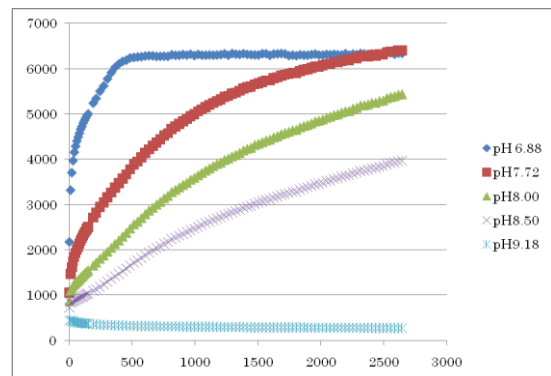


図 1. 各 pH の緩衝溶液に浸したセンサが、紫外線励起によって発する蛍光強度の時間変化。縦軸は明るさ (A. U.) 横軸は時間 (分)

図 2 は、このセンサを用いて水槽中の堆積物-水境界における pH を疑似カラーで可視化した結果である。この図は、測定後 3 時間後の蛍光強度画像を、測定開始直後の画像で割ることで得られたもので、pH が低いほど緑～赤色を示している。二枚の画像を割っているため、水と堆積物の部分でそれぞれ異なる、背景の濃淡はキャンセルされている。スケールバー、青色部分と、黄色部分の値は、実際に電極を用いて測定した値である。この図より、堆積物中の蛍光強度が水中のそれよりも高い、すなわち堆積物中の pH は水中よりも低いことが明らかである。

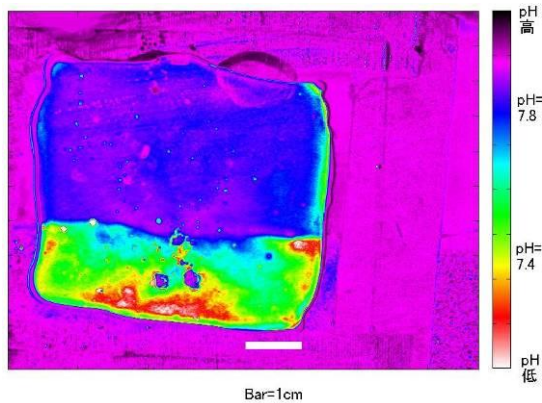


図2. 水槽中の堆積物-水境界にセンサを適用した結果。

(3) 現場型観測装置

「なつしま」NT10-19 航海において、現場型観測装置の試験を行った。相模湾・初島沖（水深約 1100m）において、酸素センサを取り付けた装置を展開し、海底での安定度や、ROV による作業のしやすさについて検討を行った。その結果、ROV のペイロードいっぱい大きさであるため取り回しにやや難があり、オペレーターの熟練度が要求されること、シルトや粘土のように細粒の堆積物の海底においては、重量が重すぎるため潜望鏡部分が完全に海底にめり込んでしまう傾向があることが明らかになった。しかし、初島沖のように堆積物の粒度が若干粗い環境では、センサ面が堆積物-水境界に位置するように設置することができることを確認した（写真4）。しかしながら、石英ガラス製の耐圧窓に亀裂が入ることで浸水し、海底の酸素濃度データを取得することはできなかった。石英ガラスの強度については、事前にテストを行い圧力 18MPa（1800m 相当）まで耐えることを確認していたため、観測時における破損は、ガラス面が完全に平面でなく不均質だったことや、ミクロの傷の存在などが原因となったことが考えられる。

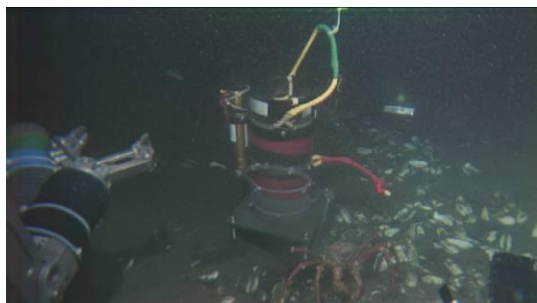


写真4. 海底に設置中の現場型観測装置。

5. 主な発表論文等

（研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線）

〔雑誌論文〕（計3件）

- ① Oguri, K., Harada, N. Tadai, O. Excess ^{210}Pb and ^{137}Cs concentrations, mass accumulation rates, and sedimentary processes on the Bering Sea continental shelf, Deep-sea Research II, 2011, in press. (査読有)
- ② 小栗一将, ガンマ線スペクトロメトリーにおける ^{210}Pb , ^{214}Pb の解析方法に関する検討、JAMSTEC Report of Research and Development, 12, 27-36, 2011 (査読有)
- ③ Oguri, K., Planar O_2 optode: principle and application for measuring two dimensional O_2 dynamics at deep-sea sediments, Proceedings of Soil Moisture Workshop 2010, 21-24, 2010. (査読無)

〔学会発表〕（計5件）

- ① 杉本珠生、感圧塗料による寿命イメージングシステムの試作と性能評価、第6回学際領域における分子イメージングフォーラム、2010/11/8、宇宙航空研究開発機構調布航空宇宙センター
- ② 小栗一将、二次元酸素オプトードを使った海底の酸素濃度プロファイル測定、2010/5/24、日本地球惑星科学連合 2010年大会、幕張メッセ、千葉市
- ③ 小栗一将、光で酸素を見る～二次元酸素オプトードの原理と海底観測への適用、2010/3/13、キャンパスイノベーションセンター東京
- ④ 小栗一将、パラジウムオクタエチルポルフィリンを使った超高感度二次元酸素センサの開発、第5回学際領域における分子イメージングフォーラム、2009/11/10、宇宙航空研究開発機構調布航空宇宙センター
- ⑤ Oguri, K. Development of planar O_2 optodes in JAMSTEC, 2nd Japanese German Joint Seminar on Molecular Imaging Technology for Interdisciplinary Research, 2009/9/2, Institute of Analytical Chemistry, Uni-Regensburg, Germany.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

小栗 一将 (OGURI KAZUMASA)
 独立行政法人海洋研究開発機構・海洋・極限環境生物圏領域・技術研究主任
 研究者番号：10359177