

pH を測る楽しさ，奥深さ

野村 聡*

1. はじめに

pH は溶液物性の重要なパラメーターの一つであり，幅広い分野における基礎研究から，工業プロセスや品質管理まで，その測定要求は多岐に渡る．pH 測定法として最も普及しているガラス電極によるポテンシオメトリーは1906年に Cremer がその動作原理を提唱して以来¹⁾，その原理が1世紀にわたり活用され続けている．そしてその1世紀の間に，高性能な pH メーターの実用化が行われ，pH 計測はある意味で完成された技術であると一般的には認識されている．しかしながら，種々の応用用途を詳細に考察し，適切な試薬や前処理法などを組み合わせることにより，pH 計測法の新たな応用展開を図ることが可能である．また，1970年代には半導体と電気化学を組み合わせた ISFET (Ion Sensitive Field Effect Transistor) (図1) が発明され²⁾，ガラス電極では不可能であった測定部の小型化や測定部形状の自由度の向上が可能となった．また，1980年代終わりには，ISFET と同様に半導体と電気化学を組み合わせた LAPS (Light Addressable Potentionmetric Sensor)³⁻⁵⁾ が発明され，均一なセンサーを複数の pH 測定点に分割して機能させることが可能となった．本講演ではこのような pH センサーの新しい展開を紹介する．

このスポーツ飲料と同量のイオン交換水を混合してもその値はほとんど変わらない．一方で，イオン交換水の代わりに同量の唾液を混合すると，pH の値は5.5まで上昇する．これは，唾液には酸緩衝能があるためで，歯科的見地からはこの緩衝能がむし歯の発生から我々の歯を守っている一つの要因であると考えられている．歯科大学付属病院における唾液の緩衝能の評価として，複数の被験者の唾液を一定量採取し，1 N 塩酸溶液10 μ l ずつ滴下し，その pH 値を測定し，滴下量に対する pH 値をプロットした．その結果，1，2 滴の塩酸の滴下では唾液 pH

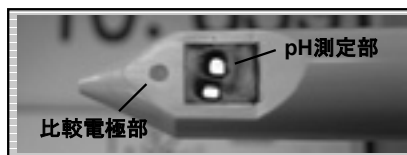
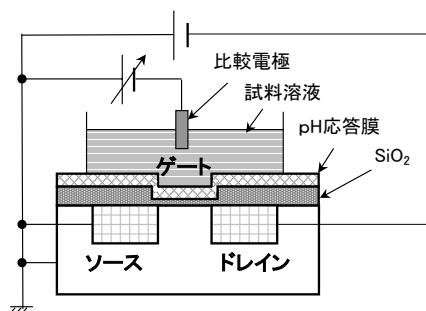


図1：ISFET (Ion Sensitive Field Effect Transistor)

2. 唾液酸緩衝能の測定

あるスポーツ飲料の pH は3.6の値を示す．

*株式会社堀場製作所 開発センター

は大きく減少せず、唾液が酸に対する緩衝能を有することがわかった(図2)。一方で、pH値が大きく低下する塩酸滴下量は被験者により大きく異なることも分かった。著者らは、このような現象に着目し、ポケットタイプのpHメーターと試薬、唾液サンプリング道具を組み合わせ、歯科医向けの唾液緩衝能測定装置(図3)を実用化した。

3. ISFET を用いた土壌測定

ISFETは測定部分にガラスを用いない堅牢な応答部を有する。このような特徴を生かし、例えば、土壌の中に直接センサー部を突き刺して、そのpH値を測定することが可能となった(図4)。これまで土壌のpH測定には、サンプリングした土に純水を加え、その上澄みのpHを測定するという手法がとられてきたのに対して、ISFETは直接土壌へ突き刺し土壌評価を

① センサーにポカリスエットを載せてpHを測定



pH3.6で 酸性 を示します。

②そこに、水道水を、ほぼ同じだけ追加します。



ところが、pHは、3.6で ほとんど変わりません。

③今度は、①と同じようにポカリスエットをセンサーに載せた後、唾液を同じ量だけ追加します。



どうでしょう。唾液が入ったポカリスエットのpHはなんと、5.5 pH まで戻りました。

唾液には、このように酸性から中性の方に戻す力があります。これを、緩衝能力“唾液の力”と言います。

図2： 唾液の力の実験



図3： 唾液緩衝能測定キット



図4： ISFETによる土壌直接測定

行なえるようになった。このような測定は、農作物の生育土壌の最適化や酸性雨等による影響の低減、あるいは建造物建築時の土壌評価などの応用展開が期待される。

4. ISFET を用いた生体活性の測定

ISFET はガラスを用いない堅牢な応答部を有することに加え、応答部が微小であるという特徴を有する。この特徴を生かして、生体反応による微小な pH 変化を捉えることが可能である。一例として、微生物コロニーをスパーテルで採取し、ISFET のセンサー応答部に置き、30 μ l のグルコース溶液を滴下したところ、コロニーの代謝による pH 変化が検出された。特にこの実験では、微生物代謝による pH 変化を時間変化で追跡することが可能であり、時間当たりの pH 変化から活性の度合いを評価することも可能となる。このような応用は、微生物コロニーとグルコースという組合せ以外にも、細胞と培養液、あるいは基質と酵素という組合せの反応解析にも適用可能である。特に、基質と酵素の場合、トータルの液量が30 μ l 程度で測定できるため、微量しか試料が得られない生

学実験には適した手法と考えられる。

5. pH イメージングによる pH 分布を用いた固体物質の評価

著者らは、LAPS を活用した pH イメージング顕微鏡を実用化し、pH を用いたユニークな固体表面分析法を確立した。pH イメージング顕微鏡は、LAPS を複数の微小な pH 測定点として機能する pH センサーとして活用し、このセンサーで得られた複数点での pH 値を化学画像として可視化できる顕微鏡である (図 5)。

この顕微鏡の応用として、まず、カチオン交換樹脂一粒単位でのイオン交換反応を観察した。0.1 M の塩化カリウム水溶液に寒天を1.5%加えて煮沸させた後、LAPS センサー上に厚さ 1 mm の寒天ゲル層を形成した。次にこのフィルムの上に 1 粒のカチオン交換樹脂 (オルガノアンバーライト スルホン酸タイプ) を置き、樹脂内のプロトンがイオン交換でゲル中へ放出される様子を可視化した。なおカチオン交換樹脂は使用前に塩酸で洗浄した。その結果、樹脂を設置後、ゲル中に pH が低下した領域が形成され、その領域が広がってゆくことが pH 分布

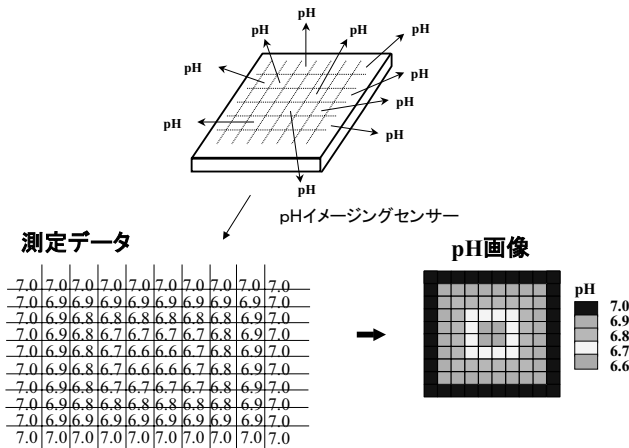


図 5 : pH イメージングセンサーと pH 画像

画像として可視化できた。pH 低下領域は時間とともに拡大する一方で、領域の中心の最低 pH 値は低 pH 領域形成後は一定値を示したことから、酸の放出が継続的に行われていることが予想された (図 6)⁶⁾。さらに、pH 画像の元になる各測定点での pH 値から、放出されたプロトン総量を計算した。すなわち、pH 測定点の間隔とゲルの厚さからなる各測定点での単位体積に対し、どれだけのプロトン量の変化があったかをその点での pH 変化値から算出し、各単位体積でのプロトン量変化を積算した。その結果、プロトン放出量は実験開始後10分程度で一定になり、この環境では樹脂中のプロトンは10分程度でゲル中のカリウムイオンに置き換わることが確認された⁷⁾。

次にヒト新鮮抜去歯スライス面の表面分析について述べる。上述の実験と同様に0.1 M の塩化カリウム水溶液に寒天を1.5%加えて煮沸させた後、LAPS センサー上に厚さ 1 mm の寒天ゲル層を形成した。試料はヒト新鮮抜去歯を厚さ 1 mm の円柱状にスライスして切り出したものをサンプルとして用いた。むし歯部分の

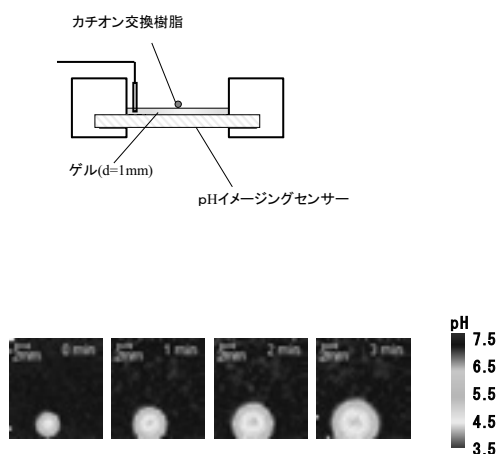


図 6 : イオン交換樹脂からのプロトン放出過程の pH 観察

pH の低下が顕著に現れることが確認され (図 7), さらにその pH 低下量が、進行状態の異なるむし歯間で、有意に異なることが確認された。この結果は、SEM や光学顕微鏡での形態観察とは異なり、口の中でおきている虫歯という現象を化学的かつ定量的に可視化したという点で非常に意義深いものであり、かつ、歯科臨床研究においても画期的なものであった⁸⁻¹⁰⁾。加えて、固体である歯の表面が溶液パラメーターの一つである pH によって評価できるという点も、これまでの表面分析とは異なる画期的なものである。

6. これからの pH 計測

近年の先端バイオ研究やナノテク研究においては、原子・分子レベルでの反応が議論されるようになってきている。このような反応系においても、プロトンが大きく関与する場合が多く、このレベルでの pH 計測が必要とされることが予想される。このような要求に対し、例えば、ナノワイヤ上に pH センサーを形成させる研究など¹¹⁾、原子・分子レベルでまさに“プロトン”の挙動を解明できるセンサー技術の実現が期待される。一方で、pH センサー表面の応答機構

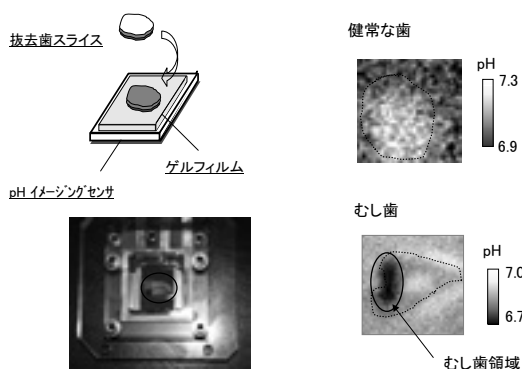


図 7 : ヒトの歯スライス表面の pH イメージング

を分子レベルで理解することは、pH センサーの精度や信頼性のさらなる向上に不可欠なことであり、このようなナノレベルでの解析技術の向上が期待される。

このように、今後の pH 計測は、原子・分子レベルでの計測技術としての発展と、その発展を支えるための、原子・分子レベルでの分析・解析技術の発展が期待され、pH 計測の追及が、これら先端科学牽引の原動力となることを期待したい。

文 献

- 1) M. Cremer, *Z.Biol.*, **46**, 562 (1906)
- 2) P. Berveld., *IEEE Trans., Biomed., Eng.*, **5**, 70 (1970).
- 3) D.G. Hafeman, W.J. Parce, and H.M. McConnell, *Science*, **240**, 1182 (1988)
- 4) M. Nakao, T. Yoshinobu, H. Iwasaki: *Sens. Actuators, Scanning-laser-beam semiconductor pH-imaging sensor.*, **B20**, 119, (1994).
- 5) M. Nakao, T. Yoshinobu, H. Iwasaki, *Jpn. J. Appl. Phys.*, **33**, L394, (1994).
- 6) M. Nakao, S. Nomura, T. Nakanishi, S. Takamatsu, K. Tomita, M. Nakao, T. Yoshinobu, H. Iwasaki, *Bunseki Kagaku*, **47**, 369 (1988).
- 7) S. Nomura, M. Nakao, T. Nakanishi, S. Takamatsu, K. Tomita: *Anal.Chem.*, **69**, 977 (1997).
- 8) Y. Kitasako, T. Nikaido, J. Tagami, K. Ikeda, K. Mitsunari, S. Nomura, *Bunseki Kagaku*, **49**, 325 (2000).
- 9) Y. Kitasako, N. Hiraishi, M. Nakajima, T. Nikaido, J. Tagami, S. Nomura, *Japanese Journal of Conservative Dentistry*, **44**, 56 (2001).
- 10) Y. Kitasako, N. Hiraishi, M. Nakajima, T. Nikaido, J. Tagami, S. Nomura, *Operative Dentistry*, **27**, 354 (2002).
- 11) Y. Cui, etc., *Science*, **293**, 1289 (2001)