

イオン選択性電極法の原理



株式会社エイアンドティー

神 徹

目次

1. はじめに.....	2
2. 電極法の原理.....	2
(1) ネルンストの式.....	2
右辺第一項の説明.....	3
右辺第二項の説明.....	3
電位とは；測定できない物理量.....	3
(2) 電位差.....	4
実際の測定では・・・.....	4
(3) 液間電位の説明.....	6
3. イオン選択性電極.....	8
イオン選択性膜の組成と作成方法.....	9
カリウムリガンド：バリノマイシン.....	10
クラウンエーテル.....	11
ナトリウムリガンド.....	14
4. 理論と実際の電極構造との整合性.....	15
5. キャリブレーションの計算.....	16
濃度の計算.....	19

1. はじめに

イオン選択性電極法は今や電解質測定に無くてはならない手法としてルーチン検査に使用されています。しかしながら、その原理はネルンストの式より始まっているというものの、各種の手引書はその原理の式を解説するに留まっているようです。実際にルーチンで使用している人々は電極を手にして、その電極があのかの式とどう繋がって測定ができていのかが一方向に理解できず、そのブラックボックスぶりにあきれているか、もしくはあきらめているかのどちらかなのではないのでしょうか。それではいけない、そのままではいけないと感ぜられている一部の向学心・探究心のある皆さん、そのような読者の要請に基づいて本文は書かれています。ですから、ネルンストの式と実際のルーチンの数値をできる限りストレートになおかつわかりやすく繋げるのがこの文章の目的です。したがってややこしくなるような詳細な資料は挙げていません。イオン電極法はこんな原理なのだとなわかっていただくための最小限の実学知識を掲載しています。さらに詳細に知りたい向学心に燃える方は、各論についてはいくらでも総説や専門的な論文や成書が世に出ていますので(残念ながらほとんど英語ですが)そちらを参照してください。

本章が悩める読者の皆さんのなごしのかの役に立てれば幸いです。(本稿は、講演会の原稿を元に構成されていますので話し言葉についてはご容赦ください。)

2. 電極法の原理

(1) ネルンストの式

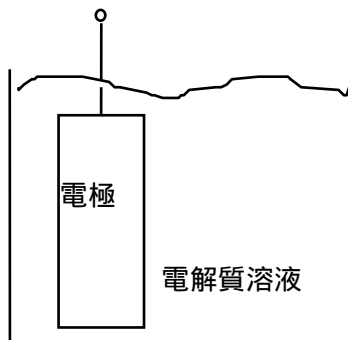
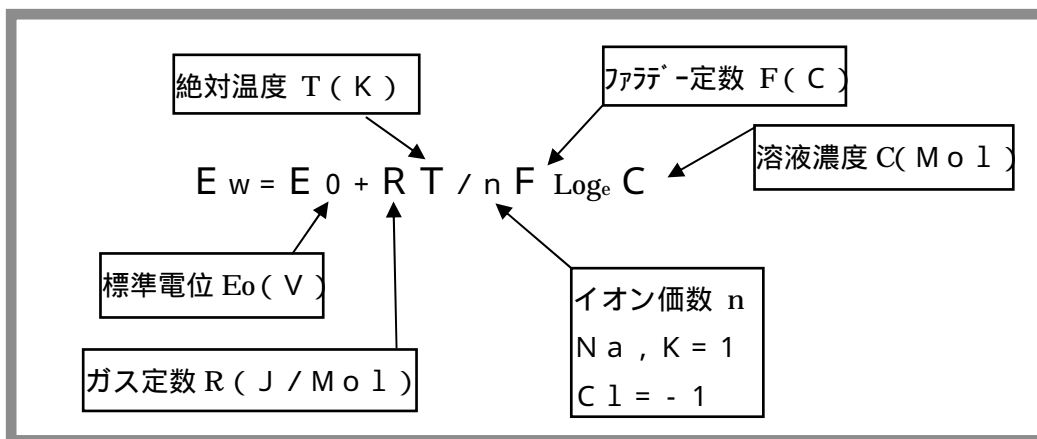


Fig. 1 ネルンストの式の概念図

まず、イオン選択性電極の原理となる電極法について説明しますが、これにはもっとも基本となるネルンストの式を理解してもらう必要が有ります。なるべくわかりやすく説明しますので、解らない時には、<http://www.aandt.co.jp/>のお問い合わせより苦情を寄せてください。

さて、Fig.1 のように1本の電極が濃度Cの電解質溶液に漬かっている場合を考えてみたいと思います。この時電極には電位が生じます。その出力電位を E_w であらわすと、



となります。これをネルンストの式といいます。すぐに説明しますから解らなくても結構です、今はただ眺めていてください。

ネルンストの式の意味はつぎのようなものです。

1本の電極の電位 = 電極自身が標準状態で有するポテンシャル + 環境によって変わるポテンシャル

右辺第一項の説明

ポテンシャルと言うのは日本語にすれば潜在能力とでもいいでしょうか、うずきのようなものです。皆さんも何か有りませんか？こういうこと；何かうずうずして「あー××したい！」と思うその強さ、これがポテンシャルです。思うだけで、実際には何もしていない状態です。電極も1本では何も実際には出来ないのですが、溶液に漬かった場合には「あーなにかしたいー！」と思っている(?)わけです。この場合、実際に出来ることは、電極なのでイオンを放出して電気を流すことです。そのうずきは、われわれが一人ずつ違うように、電極の材質ごとに異なります。材質ごとのこのうずきの強さは標準酸化還元電位という形で成書に記載されていますので、詳しく知りたい方はそちらを参考にしてください。

上の式では、電極が標準状態でもっているポテンシャルというのがあります。これは、電極自身、電解質溶液に漬けなくてもこのようにうずきが有るわけです。標準状態とは、これは便宜上25 °Cの時を基準に取っています。米国の室温は高いので。

右辺第二項の説明

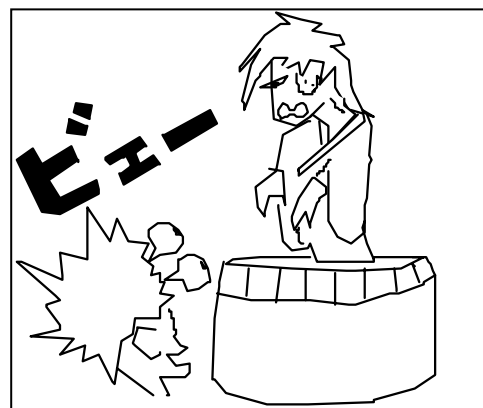
一方、環境によって変わる、というのは溶液中の電解質の濃度が変わるとうずきが変わるということを示しています。これは皆さんも理解出来るでしょう。たとえば、スキーの好きな人が、冬が来て雪が降ってくるとたまらなくなってくるように、電極も、イオン濃度の高い環境になるに従って電気を流したくてうずうずするわけです。電解質の濃度が高くなるほどこのうずきは強くなる、というのがこの項の意味です。

さて、このように1本の電極が電気を流したいと思っている強さをうまく式にしたのがネルンストの式です。次には電位について説明しましょう。

電位とは；測定できない物理量

電位とは電極が有する、電気を流しうる潜在能力なのですが、なかなか掴みにくい物理量です。たとえていうならば、電位 E_w は井戸から出てきた幽霊の背の高さともいいましょうか。皆さん井戸から出てきた幽霊の背の高さって測定可能だと思います？

まあ、普通なら恐くってそれどころではないでしょうが・・・



日本の怪談に出てくる幽霊には足がありません。さらに井戸から出てきたら、井戸のどの辺に爪先があるかなど知る由もありません。

ですから、私たち人間にとってはその幽霊の背の高さは掴みかねるでしょう。このように電位というのは測定不能な物理量なのです（ちょっと強引）。しかし、地面からの高さならわかります。この地面から頭のとっぺんまでの高さにあたるものが標準電位と考えてください。すなわち、何かどこかを一旦基準にしてしまうのです。電気化学では水素電極なる構造の複雑な電極が基準とされており、それに対しての各電極の値は対標準酸化還元電位 (vs. S.H.E ; Standard Hydrogen Electrode) として表記されています。

(2) 電位差

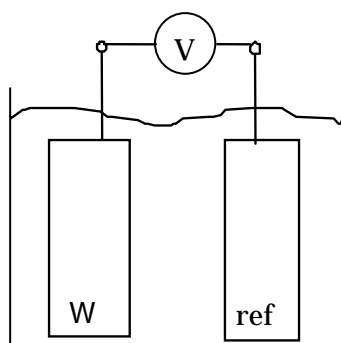


Fig.2 電位差の測定

話を元に戻しますと、ネルンストの式はあくまでも一本の電極を溶液に漬けたときのことを想定していますので幽霊のたとえの如くその電位は実際には検出不可能なものです。われわれが測定できるのは2本の電極が浸漬された場合（左図）の両者の電位の差、すなわち電位差だけなのです。幽霊のたとえでいうならば「幽霊を見た人の目から見た幽霊の背の高さ」となります。すなわち、見た人が基準（リファレンス）電極になるわけですね。要するに幽霊を見た人が、「自分の背より何センチぐらいたかいく所に浮いていた」と証言することになるわけです。これが測定

される物理量、すなわち電位差にあたります。

さて、このような電位測定系の場合、2本の電極のうち、作用極でないものをリファレンス電極といいます。この場合、両電極間に生ずる電位差 E は

$$E = E_w - E_{ref} = \frac{RT}{nF} \log C - \frac{RT}{nF} \log C + E_w^0 - E_{ref}^0 = E_w^0 - E_{ref}^0$$

となります（浸っている電解質溶液の濃度が一緒なので電極表面の持っているポテンシャルのみの差）。たとえば、幽霊と見た人の頭の高さの差にあたります。これなら電位差計を用いて測定することが出来ます。

実際の測定では・・・

さて、電位差はこの状態（2本の電極を溶液に挿入すること）で検出可能になりました。しかし、これではまだ溶液の濃度の測定はできません。それはリファレンス電極が同じ溶液に浸っているからです。この状態では溶液に検体を入れると、電位差は上の式のように濃度の項がキャンセルされてしまうので、どの検体も同じ電位しか出ないことになるからです。ですから、リファレンス電極側は通常一定濃度の溶液（リファレンス液）に浸しておくことが必要となります。そこで、少し電極周りの構造を改良しましょう。すなわち、Fig.3のように、2本の電極の間に隔壁を設け、2種類の溶液にそれぞれの電極を浸します。これなら、それぞれの電極は別々の溶液に浸ることになり

ますので、リファレンス電極側には、サンプルを入れないよう気をつけさえすれば、リファレンス電極は常に一定の電位を出力してくれるはず・・・。

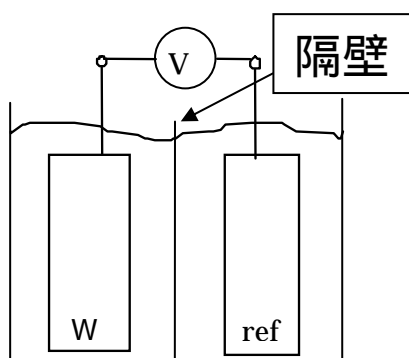


Fig.3 隔壁の設定

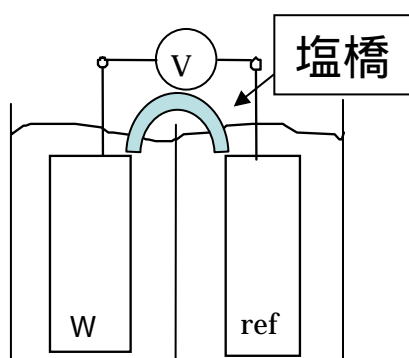


Fig.4 塩橋による導通

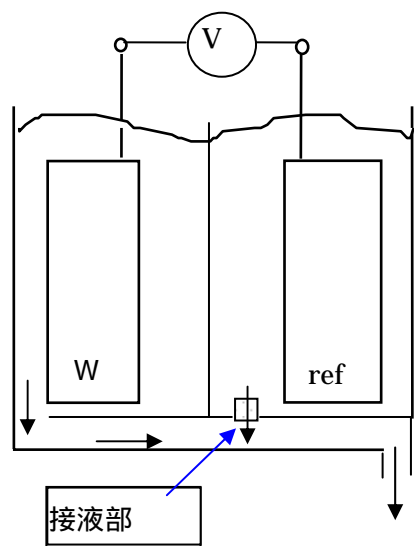


Fig.5 液絡による導通

ただこれだけですと電氣的に導通しないのでうまくありません。これを解決するのは結構厄介です。つまり、溶液を分け、なおかつ両者が電氣的に繋がっている必要があるのです。

この困難な構造を解決するために、これまでに種々の方法が考案されてきました。

実験レベルでもっともよく使用されるのは塩橋です。

1%程度の寒天を熱い塩化カリウム水溶液(1-3 mol/L)に溶解、これを直径3 mm くらいのビニール管に通し、そのまま冷やして固めたものです。これを両水溶液に橋渡しをするように引っ掛けて、導通させるのです。こうすると、寒天に固定された塩化カリウムはほぼ水相に移行することなく、良好な同通を得ることができます。

ただし、血清レベルのカリウム(3-5 mmol/L)を測定するような場合、たとえばサンプルの量の都合で10倍希釈で測定したとすると、0.3 mmol/L となり、3 mol/L の塩橋からの漏出カリウムイオンの影響は避けて通れません(なにしろ、一万倍の濃さです)。

そこですこし薄めの、0.01 - 0.1 mol/L の硝酸アンモニウムや酢酸リチウムのような塩橋が使用されます。ちなみに塩橋の中の塩濃度は濃いほど、溶液抵抗が小さくなるので、電流を流す系ではノイズが防げるという意味において大切なのですが、イオン電極測定法のように電圧測定の場合は少々薄くても(装置の入力インピーダンスが大きければ)実験では測定可能です。また、端部からの塩の溶出を防ぐ目的で先端部分をガラス管で絞ったりします。

さて、実際の系では、塩橋が使われることはまずありません。それは腐敗しやすいものですし、品質を安定して製造、供給ができないからです。この辺は工夫をして、溶液を常に流しながら測定する方式を採用しています。模式的に書くとFig.5のようになりますが、矢印に沿って W 電極側の溶液を流し、その途中でリファレンス液と接液(液絡ともリキッド・ジャンクションともいいます)させます。

この際、リファレンス電極には、リファレンス液のみが触れるように設計してあります。接液部には多孔質の材質を使用するなりして、リファレンス液はきわめて微量しか流れないようにするのです。

こうすれば、リファレンス液の消費も抑えられますし、測定対象に血清のような汚れやすい材料を使用してもリファレンス電極が汚染されて基準となる電位が変動することがありません。この接液部の設計が実際に作成するときのノウハウになっています。

では、なぜ接液部にこだわるかについて以下に説明します。

(3) 液間電位の説明

このリファレンス液は 1 -3.3 mol/L の塩化カリウム溶液なのですが、では塩化ナトリウムではいけないのでしょうか？実は塩化ナトリウムではやはりまずいのです。これには理由があります。塩化ナトリウムは平たく言えば食塩ですね。食塩を構成するイオンはナトリウムイオン（カチオン）とクロルイオン（アニオン）です。この塩を水に溶かした場合水に溶けて、この2つのイオンに分離することは今どき小学生でも中学受験生は知っています。しかし、これを実用化にもっていこうとすると大変苦労することになるのです。

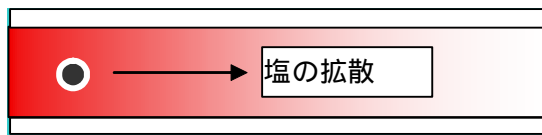


Fig.6 管の一端に食塩を入れ溶解

さて、ここで、説明のため、一本の細い管に登場してもらいます。この管の中に水をいれ、片側に食塩の塊を入れたとします。

今、Fig.6 のようにこの管の左側先端にて食塩が溶けたばかりだと考えます。すると溶けたばかりの濃い溶液はゆっくりと拡散し、図の一番左が最も塩が濃く、

右に行くほど薄くなるはずですが、このように塩がゆっくり移動をするとき、面白い事が起きるのです。水中に溶けた塩化ナトリウムは先ほど述べたようにナトリウムイオンとクロルイオンに溶解しますが、この2つのイオンの水溶液中での動きが実は違うのです。管の中を拡大し図解を試みましょう。

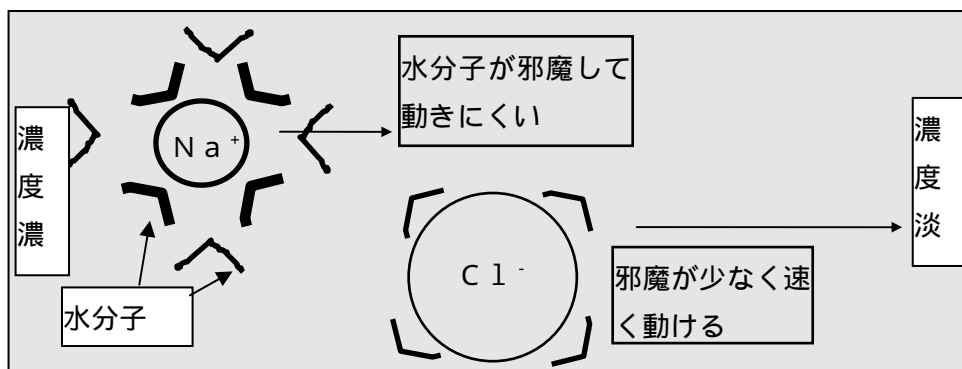


Fig.7 ナトリウムイオンとクロルイオンの水中での挙動 1

Fig.7 のようにナトリウムイオンが水中にある、と考えます。ナトリウムのほうがイオンの半径は小さいのですが、小さい原子に電荷を有している為、他の原子より電子密度が高くなります。そのクー

ロン力により、周りに分極した水分子が集まってきて（水和といいます）、ナトリウム原子の運動を邪魔します。一方、相対的にですが、クロル原子は大きいので、体積あたりの電荷が小さくて、水分子の邪魔が少ないのです。その結果、両者の移動スピード（輸率といいます）に差が出来るのです。大きい原子のほうが速いなんて不思議ですよ。でも、これは実験事実です。さて、その結果、クロルイオンのほうが先に進んでしまい、遅れたナトリウムイオンとの間に水溶液中であたかも電池が形成されるかのように電位が生じます。要するに、食塩水が拡散するだけで余計なノイズが乗るのです。

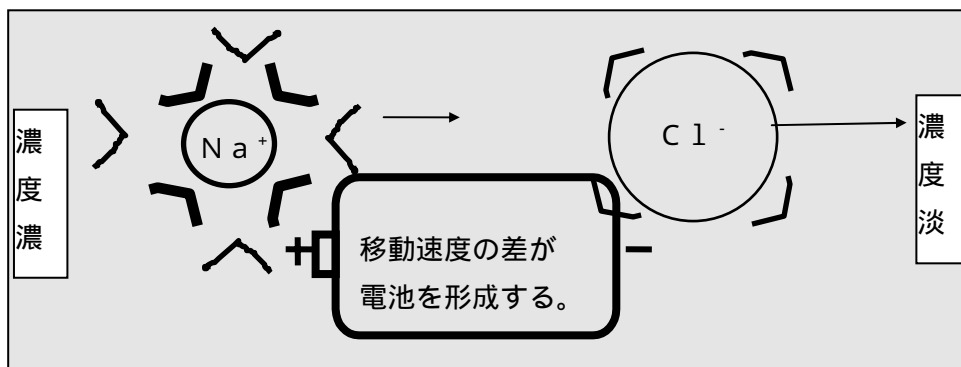


Fig.8 ナトリウムイオンとクロルイオンの水中での挙動 2

このような電位を拡散電位と呼び、測定系にこのような局所的な電池が形成されると複雑な影響を与えるので避けなければなりません。

イオン電極法では前述したリファレンス液（あるいはリファレンス電極内部液）と測定溶液が接液、混合される部分（液絡部）、ここでこのような現象が起きる可能性があるわけです。これによって生じる電位を液間電位といい、イオン電極の開発者から忌み嫌われています。では、塩化カリウムの場合はどうなのでしょう？

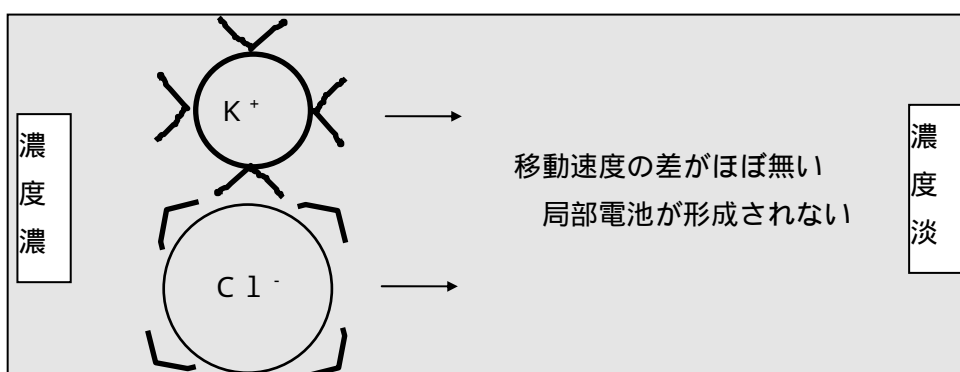


Fig.9 カリウムイオンとクロルイオンの水中での挙動

実は、塩化カリウムの場合、カリウムイオンはナトリウムイオンよりやや大きいので、体積あたりの電荷密度が（ナトリウムと比較して）小さく、カリウムイオンとクロルイオンの輸率が、ほぼ等しいのです。従って、この溶液を使用する事によって、上述したような電位（同一の溶液でも濃度の高いところと低いところで生じる電位差）を無視する事ができます。先ほど述べた硝酸アンモニウムや酢酸リチウムも両者の輸率がほぼ等しいので、塩橋に使用できるのです。

リファレンス液はこのように塩化カリウム液を使ってしまうと問題ないのですが、W側の溶液はそ

うはいきません。生体溶液を測定すればナトリウムイオンが多い場合がほとんどでしょう。この場合はそのナトリウムイオンによる液間電位は防げないことになります。この影響を小さくするために、もっとも有効なのがリファレンス液の濃度を思いっきり濃くすることです。桁違いに濃くすることによって、相対的にその液間電位は無視できるようになってきます。リファレンス液に濃厚な塩化カリウム溶液が使用されるのはそのためです。

3. イオン選択性電極

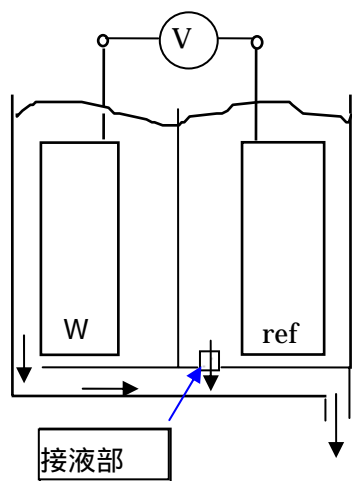


Fig.10 電極法の完成形

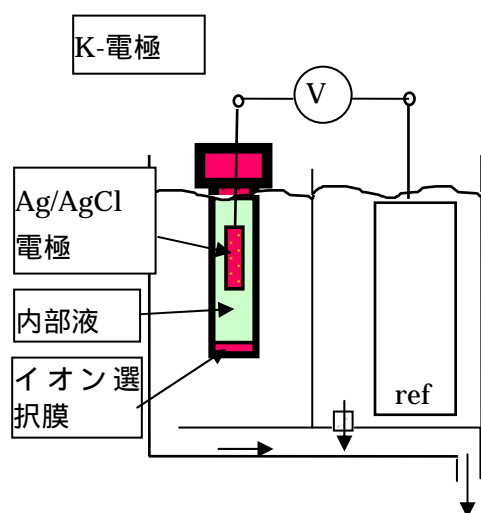


Fig.11 イオン選択性電極の装着

接液部の話はこのくらいにしておき、先ほどの図に戻るとしましょう。

さて、Fig.10 で実際に電気的な導通は接液によって確保されましたし、電極法でのイオン濃度測定が可能なのでしょうか。実はこれでは、肝心のイオン選択性が発現できていません。これで測定ができるとしたら、W という電極板が有する範囲の性能のものしか測定できないのです(通常は金属板だったら、カチオンの総濃度)。そこで、イオン選択性電極を金属板 W の代わりに装着する必要があります。イオン選択性電極は、今は市販品があるのでとりあえず 5 万円くらい出して買って装着してみましょう。種類は今のところなんでもいいので、とりあえずカリウムイオン選択性電極を「選択」したとします。

ここで、装着したイオン選択性電極についてその構造を簡単に説明しておきたいと思います。イオン選択性電極は、円筒形の本体の先端部にイオン選択膜を貼り付け、内部液を満たしてそこに Ag/AgCl 電極を挿入しているのが最も一般的な形です。本体の材質は導電体でなければ、ガラスでも結構ですし、ポリ(塩化ビニル)でも、その他のプラスチックでもかまいません。一般的にはイオン感應膜との接着性を考慮し、ポリ(塩化ビニル)が使われています。

内部液の組成については、一般的に塩化カリウムが支持電解質として使われているようです。その他、添加物を加えてゲルにしたり、糊のような粘ちょう液にしたりあります。防腐剤が入っているのも一般的です。CWISE(Coated Wire Ion-Selective Electrode の略、イオン選択性電極の測定法のひとつ)では、内部液を使わず、直接イオン選択性膜が電極板に接触しているタイプもあります。

Ag/AgCl 電極（銀/塩化銀電極）は、イオン電極の内部の電極板として使われています。銀を塩酸や塩化ナトリウムの水溶液中で電解塩化させることで容易に作成できること、作成後の表面の塩化銀膜が安定なことなどから、イオン電極に用いるのには最適といえるでしょう。ただ、非常に微量でもアンモニウムガスが溶け込むとあっという間に銀アンモニウム錯体を作り、白化してしまいますのでご注意ください、通常はあまり無いかもしれませんが、実験室などでは注意が必要です。筆者も先輩が同じ部屋でアンモニウムガスを扱っていた次の日に置いてあった電極が残らず真っ白になっており、真っ青になったことがあります。

イオン選択性膜の組成と作成方法

さて、イオン選択膜ですが、カチオン選択性膜とアニオン選択性膜は組成が根本的に異なるので、ここでは、カチオン選択性膜について説明します。イオン選択膜の主な組成は可塑剤によってやわらかくしたポリ（塩化ビニル）の膜にリガンドと呼ばれるイオン選択性物質が溶解しているものです。

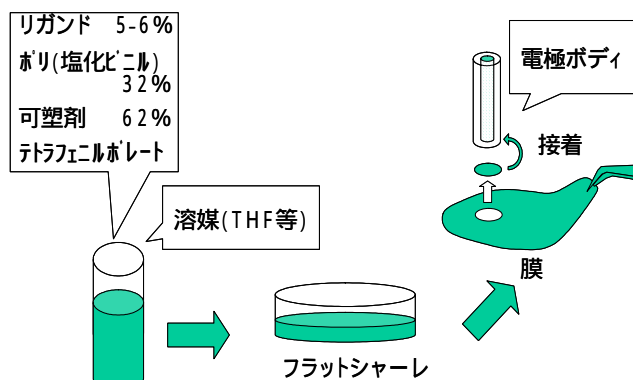


Fig.12 イオン選択膜の作成方法

これによって、可塑剤という、一種の油の中に浮いているリガンドがその機能性としてイオン選択性を発現しているということになります。

この膜の作成方法は、Fig.12 のとおりです。まず、それぞれの組成物を一旦ポリ（塩化ビニル）のとける溶剤（たとえばTHF：テトラヒドロフラン）に溶かします。このときに、テトラフェニルボレートのような油に溶けやすく、なおかつ可塑剤に少量しか溶け込まないアニオン成分を

少量混ぜておくと、サンプルや希釈液に含まれているアニオンを膜の中に取り込みにくくするので、カチオン系の選択性膜についてはよい性能のものが得られます。

さて、これらを溶かし込んだらその溶液をガラス製のフラットシャーレに入れ、水平な場所で湿気が入らないように周囲に乾燥剤を撒いてゆっくり溶媒を飛ばします（キャストといいます）。溶媒が飛んだ後の膜は0.1-0.2 mm くらいの厚みに調整するのですが、柔軟で、弾力性があり、強度もそこそこある取り扱いやすい膜となります。膜はイオン選択性などの化学的性能も大切なのですが、温度変化や、圧力の変動、衝撃などにも耐える必要がありますので、こうした物理的諸条件も満たさなくてはなりません。なお、膜の物理的性質は、ポリ（塩化ビニル）の平均重合度と可塑剤の添加量、そして膜厚によって異なります。ポリ（塩化ビニル）

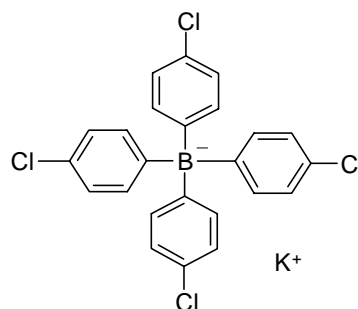


Fig.13 添加剤として使用されるカリウム p - テトラキス(クロルフェニル) ボレーートの構造式

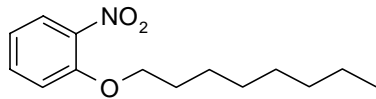


Fig.14 可塑剤 (o-ニトロフェニルオクチルエーテル) の構造式

平均重合度は、一般的には 1000 - 1100 程度のものが用いられ、これ以上のものを用いると電位が得られにくくなっていきます。また、可塑剤も減らしていくとリガンドの性能が得られなくなっていきますので、それぞれのリガンドによって最適な量の範囲があります。たとえば後述するバリノマイシンなどはここに書いたように5 - 6%も加える必要

は無く、1%も加えれば十分な機能性を発揮します。尚、可塑剤については、ポリ(塩化ビニル)を可塑化する(やわらかくする)、という意味のほかに、リガンドを溶解する、という重要な役目を担っていますので、それぞれのリガンドに最適の可塑剤が存在します。たとえば後述するクラウンエーテル系のものについてはo-ニトロフェニルエーテル系のものが最適ですし、これらはバリノマイシンなどには不向きだと思われます。

可塑剤について注意すべき点は、これらは一種の油ですので、界面活性剤が存在すると、その界面活性剤を媒介して簡単に水溶液性のものを膜の中に取り込んでしまうことです。通常の生体サンプルは同様の作用を被毒と捕らえ、免疫が働きますので、まずこのような物質が混入することは無いのですが、サンプルカップの洗浄・再利用したものを使ったりした場合、界面活性剤がほんの少量残っているだけでも、こうした可塑剤を用いたイオン選択膜はその性能が劣化、もしくは消失します。中性洗剤の原液を一滴たらしたのものについて、実験をしてみると、流水のみで完全に洗い流して、電極に影響が出なくなるまでの洗浄時間は実に15分でした。つまりその位しつこく洗わないと影響が残るわけです。

さて、膜の製造方法の説明はこのくらいでよいかと思います。こうして得られた膜は電極の本体に接着するなどして装着し、使用されることとなります。

次に、イオン選択性を発現する源のリガンドにはどのような化合物が使用されているのかをカリウム・ナトリウムについて説明してまいります。

カリウムリガンド：バリノマイシン

カリウム選択性を示す代表的なリガンドはバリノマイシンです。これは、Fig.15のようなユニットが3つ環状に結合したポリペプチドです。

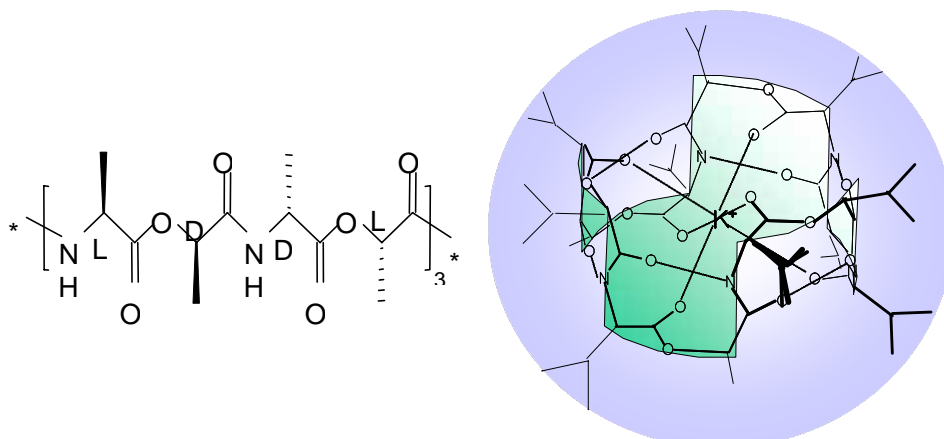
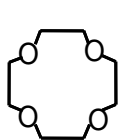


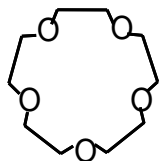
Fig.15 バリノマイシンの構造式と高次構造

バリノマイシンは地中などに生息しているある種の放線菌が放出する抗生物質のひとつであり、カリウムをその中心金属として立体的に取り込み、3枚の屏風を立てたような3次元構造をとります。このとき、まるで生き物のように水素結合を使った「腰紐」で自らの構造を安定化させると共に、6個の酸素原子がカリウム原子のほうに突き出してしっかりとそれを捕らえます。同時に外に向けてイソプロピル基が張り出し、分子量1111もある構造体が小さな粒となって細胞膜にもぐりこむのです。バリノマイシンはそうやって細胞内のカリウムを運び出し、毒性を発揮してしまうという悪役を演じるのですが、筆者はこのあまりにも見事な分子設計に畏敬の念すら覚えた記憶があります（皆さんも興味があったらぜひこの「美の結晶」を分子モデルで組み立ててみてください）。そのカリウム選択性も優れたものがあり、電極にした場合、ナトリウムイオンに対する選択係数が0.0001、すなわち、1万倍も鋭敏にカリウムイオンに感応するのです。

クラウンエーテル



Na: 12 - クラウン - 4



K: 15 - クラウン - 5

王冠(クラウン)のようなエーテル化合物(C_2H-O-C_2)群
発見者C. J. Pedersen (DuPont)の命名 H

Fig.16 クラウンエーテルの基本骨格

クラウンエーテルというのは、現在広くりガンドとして使用されている一連の化合物の骨格の総称です。ですから、クラウンエーテルは単一の化合物ではありません。正確に言うならクラウンエーテル誘導体、とかクラウンエーテル骨格を有する化合物とか言うべきものでしょう。基本骨格はエチレンオキサイドユニットの繰り返しでできており、環の構成原子数を最初の数値に、ハイフンでクラウンエーテル(すなわち王冠のように環状であること)を示した後にまたハイフンで

ドナー原子(孤立電子対など⁻チャージを有することによって金属などと相互作用する原子：ここでは酸素原子のこと)の数を示しています。ですから、図的には上に示した12 - クラウン - 4と15 - クラウン - 5、よりも小さい9 - クラウン - 3とか、さらに小さい6 - クラウン - 2 (ジオキサンのこと)、などもクラウンエーテルの仲間と考えうのですが、金属との相互作用が認められないので、あまり報告例はありません。よく報告されているのはやはり12 - クラウン - 4から18 - クラウン - 6と言えます。さらに、21 - クラウン - 7より大きなクラウンエーテルは逆に環のサイズが大きすぎると、フレキシビリティが大きすぎるために、ほとんど金属との相互作用において選択性が発現されなくなってしまうため、報告数は激減します(合成・分離が難しくなる

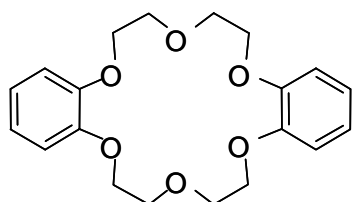


Fig.17 ジベンゾ - 18 -
クラウン - 6 の構造式

のも原因のひとつでしょう)。さて、これらの物質はデュポンの化学者であったC.J.Pedersenによって見いだされました。発見のきっかけとなったのは、ジベンゾ - 18 - クラウン - 6 という化合物です。

この化合物は当時、ガソリンのオクタン価を上げる助剤を研究していた彼のフラスコの中から、きらきら輝く白い結晶性の副生成物として分離されました。分子の対象性がよかったのと、ベンゼン環の存在が結晶の融解温度を高くしていた

ため発見に繋がったものです。これが12-クラウン-4と15-クラウン-5のように油状の物質であったら、なかなか見つかりにくかったと思います。彼はただ単に副生物として見殺しにするのではなく、この化合物の不思議な特性を見出すと、本来の研究はそっちのけでクラウンエーテル研究に没頭し、9年間の月日を費やしました。9年後に1報の文献に「クラウンエーテル」と名をつけて報告し、世の中をあっと言わせました。この報告を元に、多くの研究者がその分野に参入し、ホスト-ゲストケミストリーがその後35年以上にわたり発展して来ました。その中の応用のひとつが、イオンセンサーだというわけです（ちなみに彼は最初の論文のみを対象にノーベル化学賞を受賞しています）。Pedersenの9年間の研究への情熱もさることながら、1文の値打ちも無い（その時点で）研究に9年間もの期間を与えたデュポンという会社も凄いものです。

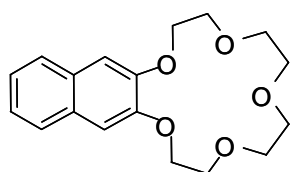


Fig.18 ナフト-15-クラウン-5の構造式

話がすこし横道にそれましたが、現在クラウンエーテルの骨格としては15-クラウン-5誘導体が高いカリウム選択性を有しております。その発端となった化合物は九大の故石橋教授らの報告のナフト-15-クラウン-5 (Fig.18) でした。

当時、15-クラウン-5はすでにカリウム1分子に対して2分子のクラウン環が上下に挟み込むようにして2:1のサンドイッチ錯体を構成することが知られており、如何に2つのクラウン環をつなげてビス（二つの、という意味）クラウンエーテルを合成するかを研究者が競っていたのです。種々のビスクラウンエーテルが合成され、それらはいずれも高い選択性を有しており、その部分での分子デザインは確かに的を得ていたと思われま。ただ、合成されたビスクラウンエーテルはいずれも膜に上げると、初期の選択性は高いのですが、すぐに膜が使えなくなってしまうという欠点を有していました。これは、クラウンエーテル環の親水性が大きいため、ひとつの分子の中に親水基を二つ持ってしまうビスクラウンエーテルは膜の中からあつという間にサンプル側、すなわち水相に溶出してしまっていたのでした。

一方、筆者らは、このナフト-15-クラウン-5が有する高い選択性は膜内でビスクラウンエーテルのようなサンドイッチ錯体を作っていることによるにちがいない。そのサンドイッチ錯体を作りやすくしているのがこのナフト環のπ-π相互作用ではないか、と気づいたのでした。すなわち、ナフト環同士が似たもの同士で重なりたいという力を発揮しているため、2分子が会合状態を膜の中でおこし、結果的に2:1のサンドイッチ錯体をつくりやすくしている、ということです。

これはわざわざビスクラウンエーテルを作らなくてπ-π相互作用を有するユニットをただ15-クラウン-5に導入すればよい筈、ということで以下に示すようなモノクラウンエーテルを合成しました。これらの化合物は目論見どおり、π-π相互作用と比例して高いカリウム選択性を有していました。

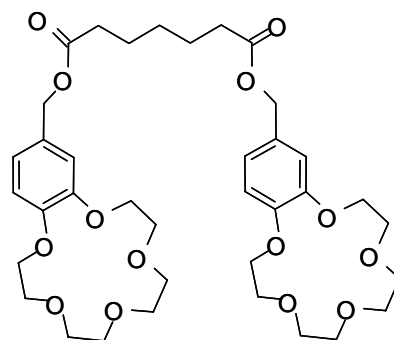
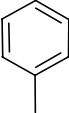
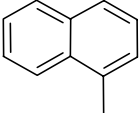
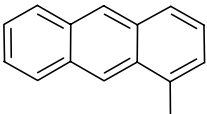
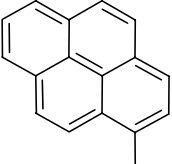
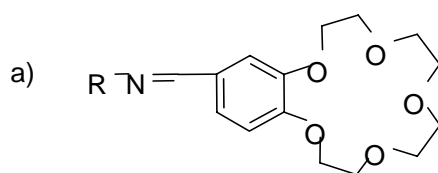


Fig.19 ビスクラウンエーテルの例
(カリウムイオン選択性は高いが耐水性が低かった)

Table 1 15 - クラウン - 5 への各種会合性基導入によるカリウム選択性の変化 1

R a)	選択性定数 $\log K_{K,Na}$
	-2.0
	-2.7
	-3.2
	-3.5



ナトリウムイオンに対する対カリウムイオン選択性は血清など生体外液がほとんどナトリウムイオンで構成されているために極めて大切です。妨害イオンの濃度が高い中で目的とするイオン濃度を正確に測定しなくてはならないからです。通常は、例えばナトリウムイオン濃度が 140 mmol/L で、その中の 4 mmol/L のカリウムを十分に測定しようとした場合、最低でも 10^{-3} ほどの選択性が必要だと思われます。ただ、これは建前の話であって、実際には、生体のイオン濃度は尿を除くとほとんど狭い範囲に一定であるので、変動値がある程度予測されます。それらは上手にシステムで消しこむこともできるため、先ほど述べた半分の選択性でも何とか測定は可能だというのが、長年電解質測定開発をやってきた開発者としての見解です（もちろん、尿測定もあるので選択係数は高いほどよいというのに越したことはありませんが）。

その後の研究で、以下のような条件を満たせば実用を含めて十分なイオン選択性電極が構成できる事がわかってきています。

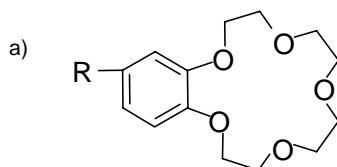
- (1) 置換基同士がお互いに相互作用し、かつ、2 個のクラウンエーテル分子が平行位置に並ぶように相互作用に方向性を持つ事

- (2) カチオンとのサンドイッチ錯体形成を妨げない立体構造である事
- (3) 十分な耐水性を有する事

これらの構造は具体的には以下の Table 2 に示すようなものです。これを元にカリウム電極を構成したところ、選択性はナトリウムに対し最高値で 3×10^{-4} 位であり、バリノマイシンにほぼ匹敵する選択性が得られています。このもっとも高い選択性に似た構造をしたリガンドが実用に使用されています。

Table 2 15 - クラウン - 5 への各種会合性基導入によるカリウム選択性の変化 2

$R_{a)}$	選択性定数 $\log K_{K,Na}$
	- 2.8
	- 3.0
	- 3.0
	- 3.5



ナトリウムリガンド

ナトリウムリガンドは、生体溶液の中で、共存物質として最も留意しなくてはならないのがカリウムイオンになるのですが、先ほど述べたように、濃度そのものが低いため、それほど大きな選択性を有する必要がありません。筆者の感覚では、選択性が無くてもたいいてい人は多分測定可能のような気がします。それは、カリウムの変動がヒト血清では一桁小さいからです。ただ、透析患者さんのなかには、驚くべきことに、カリウムが8 mmol/Lを超えられた方が外来にスタスタ歩いてこられたりします。やはり、選択性はあるに越したことは無いでしょう。

ナトリウムリガンドにはカリウム同様、ナトリウムイオンとサンドイッチ錯体を作る 12 - クラウン - 4 を骨格とするのが最適のようで、分子設計のほどこされたビスクラウンエーテルが対カリウム

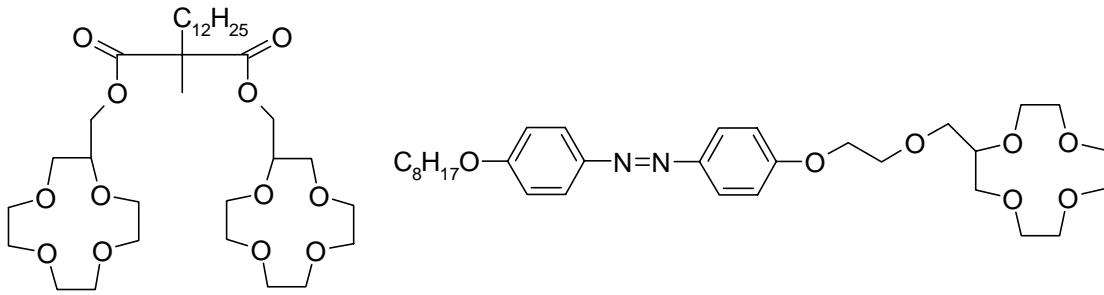


Fig.20 実用化されているナトリウムリガンド

選択定数で0.01と約100倍の選択性を発揮しています。このビスクラウンエーテルは実用に使われています（T社さん、H社さんなどです）。また、先ほどの会合性基を利用したモノ（ビスクラウンエーテルに対して単環の、という意味）クラウンエーテルの誘導體も実用化しています。

ここまで示してきましたように、クラウンエーテルが特定無金属に対する選択性を向上させるための方法論は主として分子の運動を抑制し、イオン親和性を示す空孔のサイズを厳密に規定することに基づいていますので、骨格はあまり選択の余地が無いのですが、種々の分子デザインができるところが面白いところです。

以上でリガンドについての説明が終了しました。これでイオン電極がどのようなものから構成されているかはわかっていただいたこととなりますので、あとは、これらが実際の電極システムとどこがどう違うのかははっきりさせることだと思います。

4. 理論と実際の電極構造との整合性

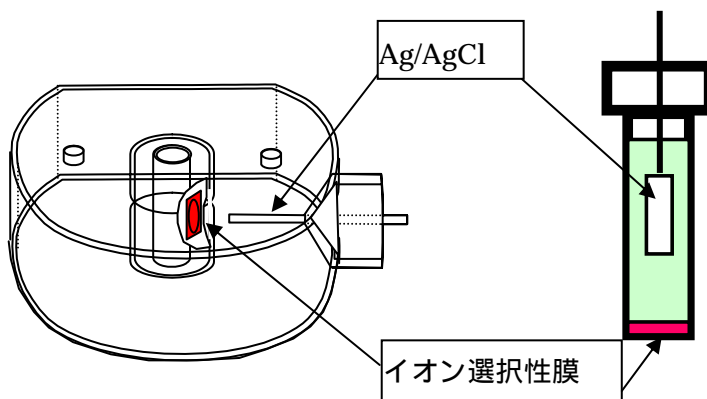


Fig.21 実際の電極と理論構造との整合性

電解質分析装置に装着される電極はおおよその形がタイコ型で、中心部に流路が設計されているものがほとんどだと思います。外形は四角いものもありますが、中身はほぼ同じと考えてよいでしょう。これらのイオン選択性電極の構造は膜の種類が違うだけで、ナトリウム、カリウム、クロルでほとんど同じであり、先ほど述べたイオン選択性電極と構成は同じです。すなわち、Ag/AgCl 電極が中に挿入されており、内部は電極内部液で満たされています。

溶液の流れに沿ってU字型に削られた円筒部にイオン選択膜が貼られているので、外からはイオン選択膜を見ることはできませんが、基本的構成は一緒です。あとは、これらの電極がナトリウム、カリウム、クロルと3種類重なったものであり、3種の電極の基準電極としてリファレンス電極が一本ついているわけです。

次に実際の電極システムとの整合性について述べておきます。実際の電極システムはフロースルー電極であり、電極の中心部を垂直に流路が通っており、サンプルはそのなかを流れます。測定のタイミングは各社によって異なりますが、液を流しながら測定するものと、一瞬止めて測定するものがあ

ります。一般的には液を流しながら測定する際には、脈流や、乱流にともなうノイズが載りますので、特殊な処理が必要になり、その分難しいのですが、測定時間は短くて済む、というメリットがあります。図には検体をクリーム色、リファレンス液を水色、両者が混合したあとの溶液を緑色で表現しました。先ほど来述べてきたものと実際の電極測定系とがマッチしてきたでしょうか。

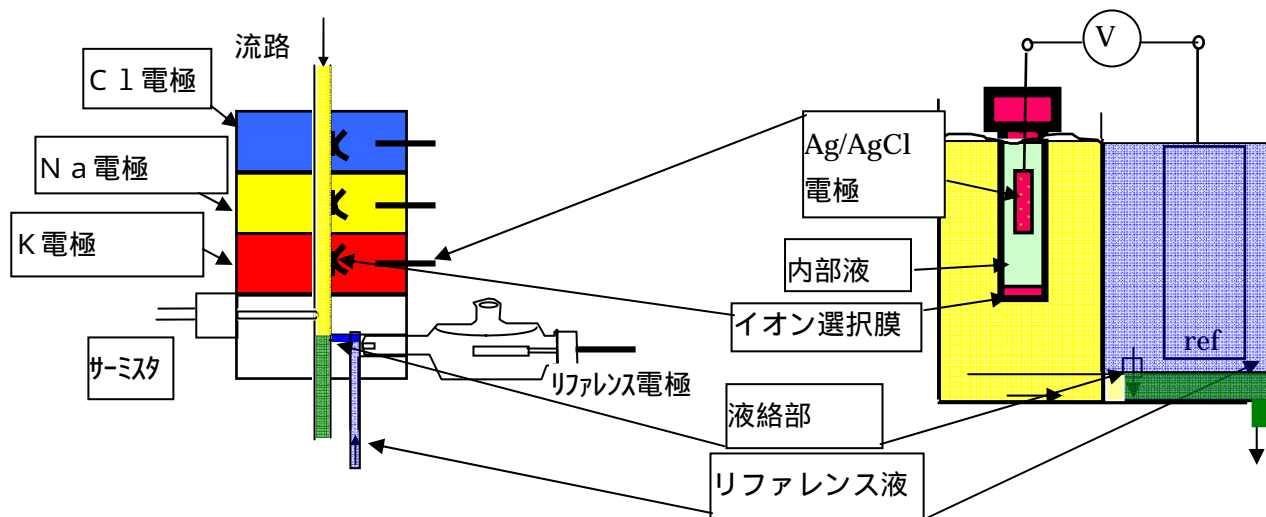


Fig.22 実際の電極システムと理論構造との整合性

5. キャリブレーションの計算

さて、Fig.22 の構造に、緩衝液が流れた場合を考えてみましょう。流路が一番上から、垂直に降りてくる部分です。ここでは、L-STD (標準液の低) を流した場合について考えてみます。まず、測定はミッド標準校正液を測定する事から始まります。

ミッド標準液はポンプの吸引によって上の方から落ちてきて(図中の黄色い部分)順番にクロル、ナトリウム、カリウム電極と接触します。一方のリファレンス電極はリファレンス液(1 mol/L の塩化カリウム溶液、図中青い部分)に浸っていますので常に一定の電位を示しています。流体は図の上部から下部に流れていき、リファレンス液も同時に流路下流(図中の緑の部分)に流れ込むのでナトリウム、カリウム、クロル電極にはリファレンス液が触れることなく測定ができるシステムになっています。この時の溶液の濃度を C_M 、リファレンス液の濃度を C_{ref} としますと、イオン電極とリファレンス電極との電位差 E_M は、先ほどのネルンストの式を利用して、

$$E_M = E_w - E_{ref} = \frac{RT}{nF} \log C_M - \frac{RT}{nF} \log C_{ref} + E_w^0 - E_{ref}^0 \cdots (1)$$

となります。次にいよいよ L-STD 測定です。カップに乗った L-STD は、緩衝液にて、一定倍率(A&T では 3.3 倍程度)に希釈されます。希釈された後 (C_L) は同じように流路を下に向かって流れてきます。この時の電位差 E_L は同様に

$$E_L = E_w - E_{ref} = \frac{RT}{nF} \log C_L - \frac{RT}{nF} \log C_{ref} + E_w^0 - E_{ref}^0 \cdots (2)$$

となります。ここで、(2) から (1) をひくと L-STD の出力が出るわけです。

(2) (1)より E_{L-M} は

$$E_{L-M} = RT/nF \text{Log} C_L - RT/nF \text{Log} C_M \cdots (3)$$

意外と簡単な式となりました。ここで(3)式の RT/nF は電極固有のスロープ値であり、実際の測定系では未知数ですので $S L_w$ と置き換えておきましょう。同様にリファレンス電極のスロープも $S L_{ref}$ としますと、

$$E_{L-M} = S L_w \text{Log} C_L - S L_{ref} \text{Log} C_M \cdots (4)$$

と、めでたく1つ式が完成しました。さて、次にやらなければならないのはH-STD(標準液高)です。でもこれは簡単です。と言うのは手順がL-STDの時とまったく同じなので、サフィックス(添え字)をLのものをHに変えるだけで良いのです。良く分からない人はL-STDのときの上記文書の中のLをHに読み換えてもう一度やってみてください。するとH-STDの測定式の答えは

$$E_{H-M} = S L_w \text{Log} C_H - S L_{ref} \text{Log} C_M \cdots (5)$$

又一つ式が出来上がりました。さて、(4)式と(5)式から、実はリファレンス電極の項を消去してしまう事が可能です。すなわち、(5) (4)とすると、

$$\begin{aligned} E_{H-L} = E_{H-M} - E_{L-M} &= S L_w \text{Log} C_H - S L_{ref} \text{Log} C_M - S L_w \text{Log} C_L \\ &+ S L_{ref} \text{Log} C_M = S L_w \text{Log} C_H - S L_w \text{Log} C_L \\ &= \underline{S L_w \cdot \text{Log} (C_H / C_L)} \cdots (6) \end{aligned}$$

・・・とこんなに簡単になってしまいました。もう一度要点だけ書き直しましょう。この式は両者(H-STDもL-STD)とも倍率が同じですので、結果的には何倍に希釈しても関係ない、ということになります。

$$E_{H-M} - E_{L-M} = S L_w \cdot \text{Log} (C_H / C_L) \cdots (6)$$

さて、実際の測定では、(6)式中の E_{H-M} と E_{L-M} はイオン電極の測定結果として数値が具体的に得られます。 C_H と C_L の値は既知ですので、 $S L_w$ の値が算出できる事になります。スロープの値は理論的には25のときに59 mVとなるのが理論値なのですが、ところがどっこい、実際にはそう簡単に理論どおりにいかないのが世の中の常です。イオン電極の場合も種々の要因によってこのスロープ値は変化してまいります。温度によっても変わりますが、実際には汚れや希釈ポットの中に残っている前回測定分の水(キャリアオーバーという)によっても左右されます。ですから、装置の状態によって変わってしまうパラメータとなるわけです。それでも、この値が出れば次のステップ、すなわち未知濃度の検体を測定する事が出来てまいります。

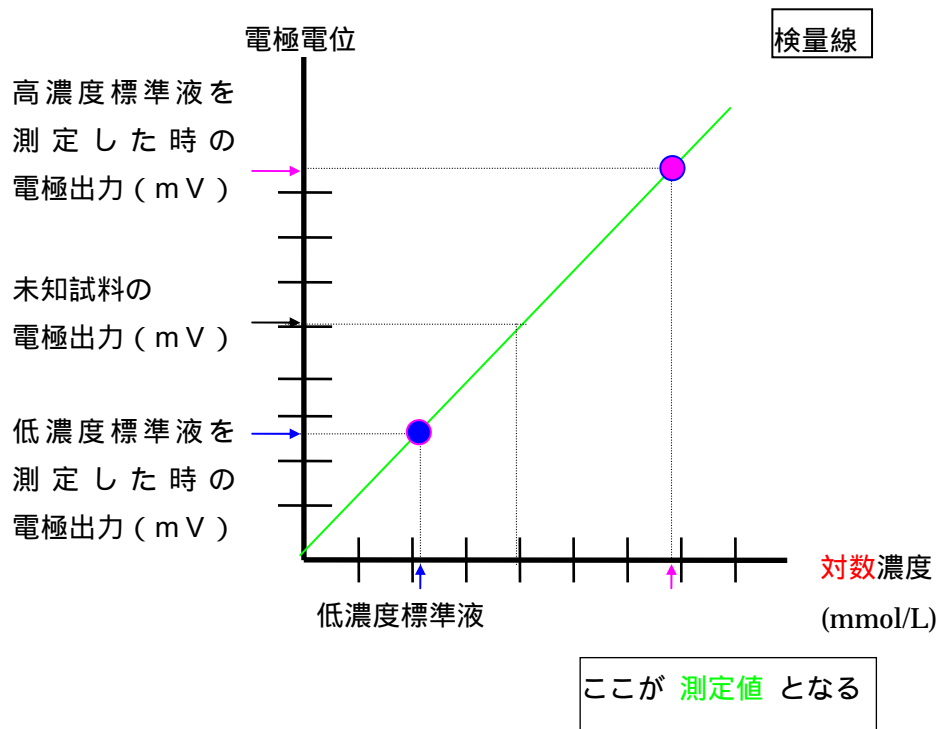


Fig.23 イオン選択性電極の検量線

要するにこの系では H-STD と L-STD を測定すれば、各電極のスロープ値が算出できるわけです。これらは今、ナトリウム、カリウム、クロルと分けていませんが、クロルはネルンストの式の符号が逆になりますので、うまくいきませんが、ナトリウムとカリウムについては汎用的に使える式になっています（クロルについては対数項をマイナスにして皆さんご自分で計算してみてください）。それでは、実際に出力されている電位より計算をやってみましょう。エイアンドティー社製 E A 0 6 のデータ例を以下に示します。

さて、この図は E A 0 6 のキャリブレーションの一部を切り取ってきたものです。このデータを元に計算をしてみましょう。

まず、カリウム電極をやってみましょう。(6)式の E_{H-M} 、 E_{L-M} に相当する値は左図ではそれぞれ 96.1、-40.0 mV です。

ここで、表示のゲイン（利得）について説明しておかなくてはなりません。ゲインというのは、諸事情があって電気回路のほうでくっつけた機能です。この機能によって、実はこれらのプリント値はそのままの 96.1 mV の値ではなく、10 倍の値が印刷されています。すなわち、実際の値はそれぞれ 9.61 mV、-4 mV と小さな値なのです。これを A / D コンバータの都合で 10 倍して表示しています。ナトリウムも同様です。ただし、クロル電極は 5 倍です（表示桁数が大きい為）。ご理解いただけただしょうか？すなわち、この値から計算する時、電位データはナトリウム、カリウムは表示値の 1/10、クロルは 1/5 にしていただきたいという事です。これらのゲインの値は、装置ごとに異なっていますので、各メーカーに聞いていただくしかありません。やる気のある方は、もし生の数値情報（mV 値）が得られており、スロープが表示されているならば、逆算して求めることも可能ですので、チャレンジしてみてください。もし、その推算値が正しければ、もう一回キャリブレーションをしても、皆さ

< Mean L - STD >		
Na	S - B	- 20 . 1
	S	- 59 . 3
	B	- 39 . 2
K	S - B	- 40 . 0
	S	113 . 5
	B	153 . 5
Cl	S - B	18 . 0
	S	836 . 9
	B	818 . 9
< Mean H - STD >		
Na	S - B	36 . 6
	S	- 0 . 9
	B	- 37 . 5
K	S - B	96 . 1
	S	251 . 5
	B	155 . 4
Cl	S - B	- 23 . 7
	S	795 . 3
	B	819 . 0
< SLOPE >		
Na		62 . 9
K		58 . 1
Cl		55 . 7
< CONC >		
[HIGH STD]		
Na		160
K		6 . 0
Cl		120
[LOW STD]		
Na		130
K		3 . 5
Cl		85

んの計算値と、装置から吐き出されるスロープの数値はぴったり一致することでしょう。

さて、 C_H 、 C_L は左にも有りますようにカリウム電極では6と3.5です。(6)式に実際代入すると

$$E_{H-M} - E_{L-M} = S L_w \cdot \text{Log} (C_H / C_L)$$

$$S L_w = (E_{H-M} - E_{L-M}) / \text{Log} (C_H / C_L)$$

$$= (9.61+4) / \text{Log} (6 / 3.5)$$

$$= 13.61 / 0.234 = \underline{58.14 \text{ mV}}$$

うまくできました。これはプリントアウトされている58.1という値と一致しています。なお、この場合のLOGの底は10です、自然対数で計算した場合は結果に2.303をかける必要がありますので、お間違いのないように。残りのものもやって試してください。ただし、ナトリウムは電位データを1/10、クロルは1/5にするのを忘れなく。

濃度の計算

実際の濃度の計算は出力されたmVのデータとスロープを使います。この場合、H-STDの値を使うやり方と、L-STDの値をつかうやり方がありますが、今はH-STDの値を使ってみることにします。

サンプルを測定したときのプリンタの出力値を E_{S-M} とします。これをさきほどの

$$E_{H-M} - E_{L-M} = S L_w \cdot \text{Log} (C_H / C_L)$$

の式の E_{L-M} の代わりに代入し、 C_L の変わりに C_s (求めるべきサンプルの濃度)を求めれば出ます。すなわち、

$$E_{H-M} - E_{S-M} = S L_w \cdot \text{Log} (C_H / C_s)$$

これらの値に該当データを代入すれば C_s の値が求められることとなります。この部分はもはや簡単ですので、各自で適当な値を入れて確かめてみてください。とりあえず、ここでひとまず終了です。