

オンサイト重金属イオン分析に向けた変色型蛍光色素の開発

Development of wavelength shift type fluorescent dyes for on-site analysis of heavy metals

北海道大学大学院工学研究院
北海道大学大学院工学研究院
北海道大学大学院工学研究院
北海道大学大学院工学研究院
北海道大学大学院環境科学
北海道大学大学院工学研究院

谷山拓生 (Hiroki Taniyama)
羽深 昭 (Akira Hafuka)
正 高橋正宏 (Masahiro Takahashi)
正 岡部 聡 (Satoshi Okabe)
山田幸司 (Koji Yamada)
○正 佐藤 久 (Hisashi Satoh)

1. はじめに

1.1 重金属汚染とその分析法

近年の水質汚濁の状況を見ると、度重なる法改正により様々な汚濁対策がとられ、過去のような激甚な水質汚濁は克服されてきた。しかしながら、微量有害化学物質の汚染対策は比較的手つかずのまま残されている。平成20年度の重金属等による汚染の環境基準達成状況を見ると、公共用水域では鉛、ヒ素について一部地点で環境基準を超過している¹⁾。特に地下水については鉛、六価クロム、ヒ素、総水銀について環境基準超過事例が多く見られる。また、河川や水路等での水質事故件数も増加し²⁾、平成17年の排水データ改ざんのような一部事業者における不適正な対応事例も見られる³⁾。さらに、現在顕在化している汚染以外にも河川、地下水を対象としたマンガン等の要監視項目といった潜在的な重金属汚染や、汚染対策の進んでいない地域での工場排水に起因する重金属汚染が存在する。

このような重金属汚染に対する対策としては汚染の早期発見、排水処理、処理プロセスのモニタリングが必要となる。すなわち、オンサイトで正確な重金属濃度の定量が不可欠となる。従来用いられてきた代表的なオンサイト重金属分析法として、比色法、イオン選択性電極法、ボルタンメトリー法がある。しかしながら、これらの分析法は精度が低い、電極が汚染される、等の問題がある。より精度の高い分析を行うには、ICP発光分光分析や原子吸光分析法といった、熟練した技術と長い分析時間を要する分析法に依存せざるを得ない状況にある。そこで、従来よりも高い精度で、かつ簡便に重金属イオン濃度を定量できる分析法の開発が急務となっている。上記の条件を満たす分析方法の一つとして蛍光分光分析法が考えられる。蛍光分光分析法は迷光による誤差がなく、高精度での分析が可能である。また、参照電極や塩橋を用いないという点で電気的な方法より小型化が可能である。さらには、光ファイバーのような伝送媒体の使用により光情報の伝達が高速かつ低損失で行えるため、リモートセンシングや一斉分析が可能である、といった利点を有する。

1.2 フルオロイオノフォアによるイオンの検出

重金属イオンを蛍光分光分析法により分析する場合には、重金属イオン自体は蛍光を発しないため、特定の重金属イオンに反応し、反応前後で蛍光特性が変化する蛍光色素分子(フルオロイオノフォア)が必要となる。そこで本研究では、重金属イオンに対して蛍光スペクトルの変化で応答する新規のフルオロイオノフォアとしてBODIPY誘導体を合成することとした。

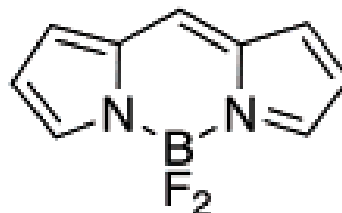


Figure 1 BODIPY の構造

BODIPY (Figure 1)はモル吸光係数が高い、蛍光量子収率が高い、光や化学反応に対して安定である、狭い蛍光バンド幅を有する、といった光学的に極めて優れた特性を持つ蛍光色素である。また、BODIPYは3または5-位に電子密度の異なる官能基を導入することで吸収および蛍光スペクトルが変化することが知られている⁴⁾。したがって、BODIPYの3または5-位に、イオンとキレート形成することによってBODIPYの電子密度が変化するような官能基を導入することにより、イオンに反応して蛍光特性が変化するフルオロイオノフォアを合成することができる。このフルオロイオノフォアは、官能基のイオン選択性に応じて特定のイオンを選択的に検出するセンサ素子となり得る。

本研究ではBODIPY構造を骨格とし、3位にイオンとキレート結合する官能基を導入した新規フルオロイオノフォア(フルオロイオノフォア 1および2)の合成を試みた。合成には鈴木-宮浦クロスカップリング反応を用いた。溶液中の特定の重金属を定量するセンサを開発する場合、分析対象となる各イオンに特異的に応答するフルオロイオノフォアが分析対象イオン種の数だけ必要となる。実用化を考えた場合、フルオロイオノフォアを逐次合成するのではコストや時間がかかる。鈴木-宮浦クロスカップリングを用いる合成法では、蛍光分子と配位子を直結させることができる。従って、BODIPYの合成法を一度確立してしまえば、配位子のみを開発することで、容易に多種多様なフルオロイオノフォアを合成できるようになると考えられる。

2. 実験方法

2.1 フルオロイオノフォアの合成

各合成ステップで合成された各々の化合物は抽出の後、シリカゲルカラムクロマトグラフィーおよびアルミナカラムクロマトグラフィーにより精製し、¹H NMR、質量分析により目的化合物と同定した。NMRスペクトルは日本電子製JNN-EX400型核磁気共鳴装置を用いて測定した。

2.2 フルオロイオノフォアのスペクトル測定

フルオロイオノフォアの吸収スペクトルおよび蛍光スペクトルはJASCO Corp., V-560, Rev. 1.00, JASCO Corp, V-630, Rev. 1.00, Hitachi High-Technologies Corporation F-4500 分光蛍光光度計, JASCO, FP-6600 分光蛍光光度計を用いて測定した。フルオロイオノフォア 1 を 4.3 μM , 金属(Na^+ , Mg^{2+} , K^+ , Ca^{2+} , Cr^{3+} , Mn^{2+} , Fe^{2+} , Fe^{3+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} , Cd^{2+} , Hg^{2+} , Pb^{2+})の過塩素酸塩をイオン濃度で各 50 当量(215 μM)となるように調整したアセトニトリルの溶液を用いて, 励起波長 515 nmで蛍光スペクトルを測定した。同様にフルオロイオノフォア 2 を 1 μM , 各金属イオンを 50 当量 (50 μM)となるように調整したアセトニトリル溶液を用いて, 励起波長 520 nmで蛍光スペクトルを測定した。

3. 結果および考察

3.1 フルオロイオノフォアの合成

フルオロイオノフォア 1 およびフルオロイオノフォア 2 がそれぞれ赤色固体および紫色固体として収率 6.23%, 20.5%で得られた。それぞれの化合物は ^1H NMR スペクトルおよびマスマスペクトルから目的の構造であることを確認した。

3.2 フルオロイオノフォアのスペクトル測定

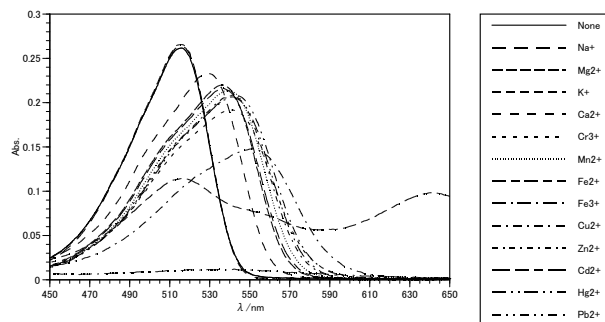
Figure 2 にフルオロイオノフォア 1 の吸収および蛍光スペクトルを, Figure 3 にフルオロイオノフォア 2 の吸収および蛍光スペクトルを示す。この結果より, 本研究で合成したフルオロイオノフォアは溶液中のイオンの存在によって吸収および蛍光極大波長が変化することが分かった。スペクトルの変化は, 金属イオンと錯体を形成したフルオロイオノフォア 1 および 2 内の分子内電荷移動(ICT)機構によるものと考えられる。アセトニトリル中でフルオロイオノフォア 1 の吸収極大波長は 515 nm, 蛍光極大波長は 539 nm であったが, イオン存在下では吸収および蛍光波長ともに極大波長が長波長側へ移動した。フルオロイオノフォア 2 は吸収極大波長は 550 nm, 蛍光極大波長は 595 nm であったが, イオン存在下で吸収, 蛍光波長ともに極大が短波長側へ移動した。

4. 結論

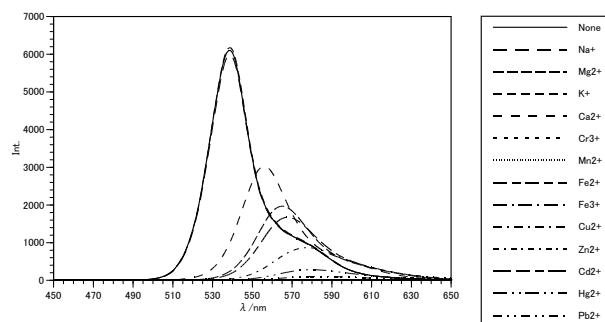
本研究では, 鈴木-宮浦クロスカップリング反応を用い, 複数のイオンにตอบสนองして吸収および蛍光スペクトルの変化を示す新規フルオロイオノフォアの合成に成功した。また, 合成したフルオロイオノフォア 1 および 2 はそれぞれ異なる複数種のイオンとキレート形成し, イオンに特有のスペクトル変化を示した。本研究で合成したフルオロイオノフォアは選択性が高くなく複数のイオンに対しスペクトルの変化を示すものであった。よって, 今後は特定の重金属イオンへの選択性がより高い配位子を選定し, これを基にフルオロイオノフォアを合成することを試みる。しかしながら, 完全に特定の重金属イオンのみに選択性を示す配位子は存在しないと考えられ, 単一のフルオロイオノフォアのみで重金属を分析することは困難であると考えられる。従って, 今後は鈴木-宮浦クロスカップリング反応により複数のフルオロイオノフォアを合成し, これらを基板に固定することでアレイ化し, 得られた複数の蛍光スペクトルを数値解析するシステムを構築し, 最終的に重金属イオン一斉分析システムを開発する予定である。

参考文献

- 1) 環境省 環境白書 (2010) 182-184.
- 2) 環境省 <http://www.env.go.jp/water/conf/fpwwq>
- 3) (財) 環境情報普及センター
<http://www.eic.or.jp/news/?act=view&serial=9796>
- 4) 安藤洋介 (2005) 慶応義塾大学卒業論文.

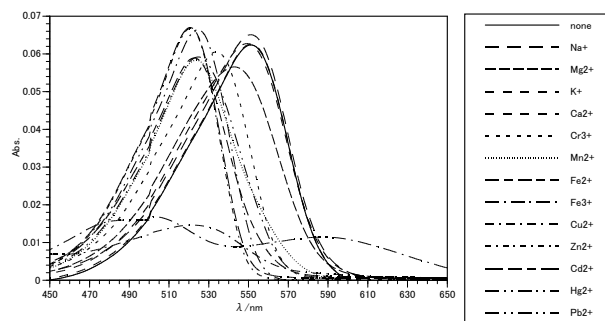


吸収スペクトル

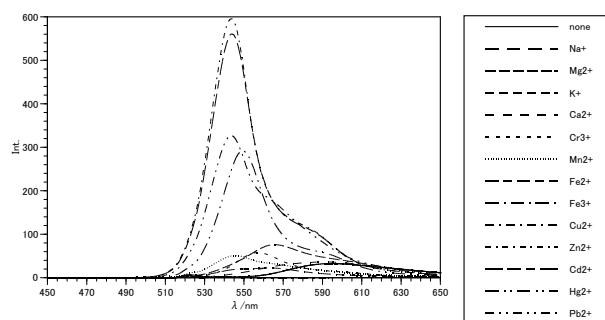


蛍光スペクトル

Figure 2 フルオロイオノフォア 1 の吸収および蛍光スペクトル。



吸収スペクトル



蛍光スペクトル

Figure 3 フルオロイオノフォア 2 の吸収および蛍光スペクトル。