

B-64 重金属イオン分析に向けた新規蛍光色素の開発

○菅藤 亮輔¹・羽深 昭¹・谷山 拓生¹・吉川 弘晃²
山田 幸司³・高橋 正宏¹・岡部 聡¹・佐藤 久^{1*}

¹北海道大学大学院工学院環境創生工学専攻（〒060-8628 札幌市北区北13条西3丁目）

²北海道大学工学部環境社会工学科（〒060-8628 札幌市北区北13条西3丁目）

³北海道大学大学院地球環境科学研究院環境物質科学専攻（〒060-0810 札幌市北区北10条西5丁目）

* E-mail: qsatoh@eng.hokudai.ac.jp

1. はじめに

近年、土壌や地下水の重金属汚染に対し社会的関心が高まり、基準や規制の見直しが行われている。例えば、亜鉛の排水基準は水道水や農業用水の基準を基に 5 mg/L と定められていたが、平成 15 年に環境基準が設定されたことを受けて平成 18 年に 2 mg/L に見直された¹⁾。水道水質基準は逐次改正され、平成 22 年には「カドミウム及びその化合物」にかかわる水質基準が 0.003 mg/L 以下に強化された²⁾。このような基準の強化に伴い、汚染サイトの検出数は急増している。地下水や土壌重金属汚染のリスクがある場所としては、廃棄物埋め立て処理場、鉱山廃水、掘削ずりなどが挙げられる。今後、基準や規制の見直しにより、これらの汚染サイトの数は増加することが予想されており³⁾、重金属分析の需要は増大すると考えられる。

重金属分析の公定法である原子吸光法や ICP 発光分光分析法などの機器分析方法は、高い分析精度を求めるほど、あるいは前処理に時間と労力を要する試料ほど、分析コストは必然的に高くなる。これは、精度の高い分析には熟練した技術が要求され、高額な分析装置が使われ、その維持管理も高コストとなるためである。重金属汚染の早期発見や未然防止のためには、簡易に、低コストで、オンサイトで重金属を分析可能な技術の開発が必要不可欠である。簡易な分析法としてストリッピング・ボルタンメトリー法が使用されている。しかしながら、この方法は作用電極表面が汚染されるため寿命が短い、参照電極が必要であるため小型化が難しい、夾雑物質の影響が大きい、などの問題点がある。

この問題を解決する分析法として我々は蛍光分光法に着目した。蛍光分光法は高感度かつ簡易な分析法であり、機器の構成要素も少ないため、装置の小型化も可能である⁴⁾。蛍光分光法を用いた重金属分析には、重金属イオ

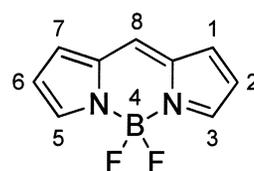


図1 ボロンジピロメテンの分子構造

ンに応答する蛍光色素の開発が必要である。本研究グループでは蛍光色素母骨格としてボロンジピロメテン（Boron-dipyromethene, 図1）を選択した⁵⁾。ボロンジピロメテン誘導体は光化学安定性に優れている、スペクトルがシャープである、といった優れた光物性を示すことが知られている⁶⁾。さらに、3位の官能基を置換することで吸収および蛍光スペクトルが大きく移動することが報告されている⁷⁾。そこで、電子密度が大きく変わるイオン配位子を3位に直結することで、蛍光スペクトルの変化でイオン濃度を定量できるイオン応答蛍光色素を開発できると考えた。本研究グループでは既にイオン応答蛍光色素の合成に成功している⁸⁾。本研究では、新規に作製した3種類のイオン応答蛍光色素の蛍光スペクトルを比較し、イオン選択性について報告する。

2. 実験方法

(1) イオン応答蛍光色素の合成

図2に新規イオン応答蛍光色素1、2および3の分子構造を示した。イオン応答蛍光色素の合成は市販の化合物を用いて段階的に行った⁸⁾。中間化合物は抽出後、シリカゲルカラムクロマトグラフィーまたはアルミナカラムクロマトグラフィーで精製した。なお、全ての中間化合物および新規イオン応答蛍光色素は¹H-NMRスペクトル、¹³C-NMRスペクトルおよびMSスペクトルによりその構造を同定した。

(2) 蛍光スペクトル測定

蛍光スペクトルは分光蛍光光度計（日本分光、FP-6600）により測定した。溶媒はイオン応答蛍光色素1および2については含水アセトニトリル（アセトニトリル：1 mM Tris-HCl緩衝液（pH 7）の比が9：1の溶液）を、イオン応答蛍光色素3についてはアセトニトリルを用いた。金属イオン標準液の調製には過塩素酸塩を用い、イオン種は Na^+ 、 Mg^{2+} 、 K^+ 、 Ca^{2+} 、 Cr^{3+} 、 Mn^{2+} 、 Fe^{2+} 、 Fe^{3+} 、 Cu^{2+} 、 Zn^{2+} 、 Cd^{2+} 、 Hg^{2+} および Pb^{2+} の13種類とした。イオン応答蛍光色素濃度を1 μM 、金属イオン濃度を50 μM から500 μM に調整しスペクトル測定を行った。この結果から、イオン応答蛍光色素の特性を評価した。

3. 結果および考察

(1) イオン応答蛍光色素の合成

図3および参考文献(5)のスキームに従ってイオン応答蛍光色素を合成した。本合成スキームの特徴は蛍光色素母骨格へのイオン認識部位（Ar）の導入に鈴木-宮浦クロスカップリング反応を用いた点にある。鈴木-宮浦クロスカップリング反応は図3のスキームに示したように炭素同士を直結する反応である。この方法を用いれば、あらかじめ合成法の確立されている図3の蛍光色素母骨格を大量合成しておき、その後イオン認識部位のみを合成するだけで、イオン応答蛍光色素を作製できる。この方法により、イオン応答蛍光色素の合成ステップを大幅

に削減できる。さらに、イオン認識部位を変更すれば多種類のイオン応答蛍光色素を容易に合成できる。実際に、本研究では短期間に3種類のイオン応答蛍光色素を合成した。

一般に、単一のイオンのみを特異的に認識するイオン応答蛍光色素を開発する事は極めて困難である。従って、分析対象のイオンを含む複数のイオンを選択するイオン応答蛍光色素を、複数種開発し、これらのイオン応答蛍光色素を同時に使用するセンサーを開発する事によって単一イオンを認識するのが現実的である。すなわち、複数のイオン応答蛍光色素を短期間に合成する必要がある。本研究の合成方法はイオン選択性の異なるイオン応答蛍光色素を容易に複数種作製できるものであり、この合成戦略は目的に適している。

(2) イオン応答蛍光色素1

図4に重金属イオンと錯体を形成したイオン応答蛍光色素1の蛍光スペクトルを示した。イオン応答蛍光色素1自体の蛍光極大波長は539 nmであった。イオン応答蛍光色素1は重金属と錯体を形成すると、蛍光極大波長が長波長側へ移動した。とくに、元素周期表の12族元素である Zn^{2+} 、 Cd^{2+} 、および Hg^{2+} を加えた場合に波長移動幅が大きかった。蛍光極大波長の移動幅はイオン種によって異なり、 Zn^{2+} (28 nm)、 Cd^{2+} (24 nm)、 Hg^{2+} (23 nm)の順に大きかった。

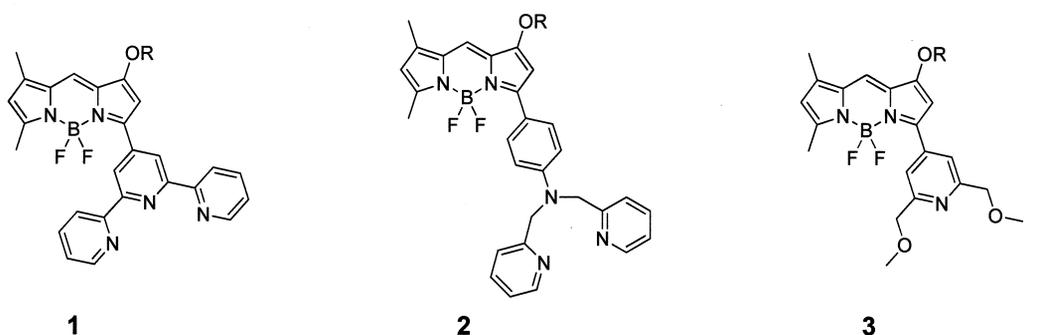


図2. イオン応答蛍光色素 1、2 および 3 の分子構造

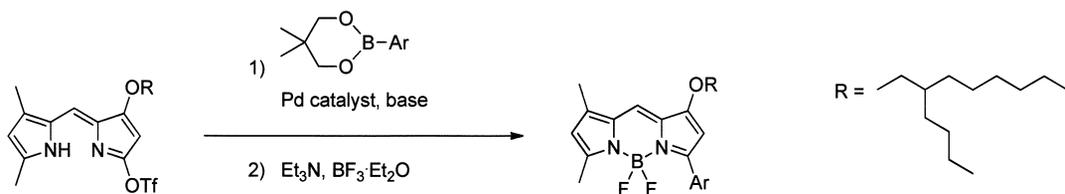


図3. イオン応答蛍光色素の合成スキーム

(2)イオン応答蛍光色素2

図5に金属イオンと錯体を形成したイオン応答蛍光色素2の蛍光スペクトルを示した。イオン応答蛍光色素2自体の蛍光極大波長は592 nmであった。イオン応答蛍光色素2は重金属と錯体を形成すると色素1とは異なり蛍光極大波長が短波長側へ移動した。蛍光極大波長はイオン種

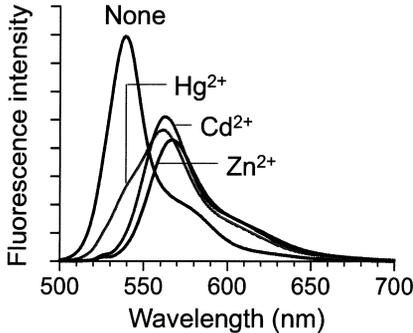


図 4. 重金属イオン (50 μM) によるイオン応答蛍光色素 1 (1 μM) の蛍光スペクトル変化 ($\lambda_{\text{ex}} = 525 \text{ nm}$)

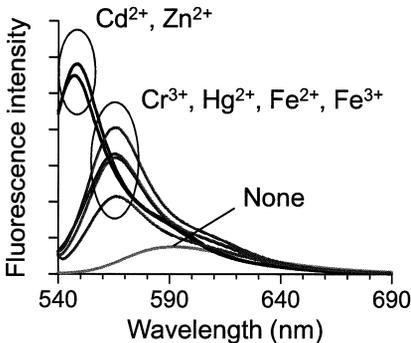


図 5. 金属イオン (500 μM) によるイオン応答蛍光色素 2 (1 μM) の蛍光スペクトル変化 ($\lambda_{\text{ex}} = 535 \text{ nm}$)

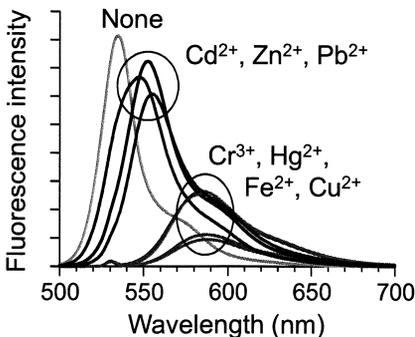


図 6. 金属イオン (100 μM) によるイオン応答蛍光色素 3 (1 μM) の蛍光スペクトル変化 ($\lambda_{\text{ex}} = 530 \text{ nm}$)

により異なった。Zn²⁺およびCd²⁺は548 nm付近に、Cr³⁺、Hg²⁺、Fe²⁺およびFe³⁺は566 nm付近に蛍光極大波長を示した。錯体形成時には色素自体の蛍光に比べて蛍光強度が増大した。

(3)イオン応答蛍光色素3

図6に金属イオンと錯体を形成したイオン応答蛍光色素3の蛍光スペクトルを示した。イオン応答蛍光色素3自体の蛍光極大波長は535 nmであった。イオン応答蛍光色素3は重金属と錯体を形成すると、色素1と同様に蛍光極大波長が長波長側へ移動した。特にCr³⁺およびHg²⁺をそれぞれ加えた時に、蛍光極大波長は585 nmへと大きく長波長側に移動した。Fe²⁺およびCu²⁺は同じく大きな長波長移動を引き起こしたものの、蛍光強度は低下した。また、Zn²⁺、Cd²⁺およびPb²⁺は552 nm付近に蛍光極大波長が移動した。

4. 結論

本研究で新規に開発した3種類のイオン応答蛍光色素は重金属イオンに反応し、蛍光スペクトルが移動することが明らかとなった。また、本研究で用いた合成スキームは、鈴木-宮浦クロスカップリングを活用しており、イオン認識部位を変えるのみでイオン選択性が異なるイオン応答蛍光色素を容易に作り分けできる。実際に本スキームを用いて短時間に3種類のイオン応答蛍光色素を合成した。合成したイオン応答蛍光色素は、単一のイオンを特異的に認識できないものの、イオン応答蛍光色素間でイオン選択性が異なった。今後、イオン選択性の異なる複数種のイオン応答蛍光色素を開発し、単一イオンを高感度で定量可能なセンサを開発する。

謝辞

本研究を遂行するにあたりCRESTおよび科研費(23686074)の支援を受けました。ここに記し謝意を表します。

参考文献

- 1) 環境省 : <http://www.env.go.jp/index.html>
- 2) 厚生労働省 : <http://www.mhlw.go.jp/index.shtml>
- 3) 伊藤由紀: 欧米における廃棄物処分の現状と地下水・土壌重金属汚染対策技術
- 4) Valeur, B. *Molecular Fluorescence: Principles and Applications*, Wiley-VCH, Weinheim, 2002
- 5) 谷山ら, 2010, 第47回環境工学研究フォーラム講演集pp190-192
- 6) Loudet, A. *et al. Chem. Rev.* 2007, 107, 4891-4932.
- 7) Rohand, T. *et al. Chem. Commun.* 2006, 266-268.
- 8) Ando, Y. *et al. Sensors and Actuators B.* 2007, 121, 74-82.