

平成21年6月1日現在

研究種目：若手研究(B)
 研究期間：2007～2008
 課題番号：19750057
 研究課題名（和文）色の種類と濃淡で見分ける重金属イオン種のワンステップ同時分析法の開発
 研究課題名（英文）One-step simultaneous determination of heavy metal ions by the use of color differences and color intensities
 研究代表者
 水口 仁志（MIZUGUCHI HITOSHI）
 山形大学・大学院理工学研究科・助教
 研究者番号：30333991

研究成果の概要：本研究では、薄層クロマトグラフィーを用いて金属イオン種の同定に関する定性的な情報を色の種類で、濃度情報を色の濃淡としてそれぞれ表現できる手法を提案した。また、塩をはじめとする共存マトリクスへの耐性ならびに汚染を回避する上でより優れた新しい TLC の技法について提案した。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	2,600,000	0	2,600,000
2008年度	800,000	240,000	1,040,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,400,000	240,000	3,640,000

研究分野：化学

科研費の分科・細目：複合化学・分析化学

キーワード：化学分析，簡易分析

1. 研究開始当初の背景

天然水や飲料水，農・工業用水，排水中の微量金属イオン濃度を管理することは、「人の健康の保護」という観点から極めて重要である。特に人体に有害な重金属イオンは，様々な法規によって許容濃度が厳しく設定されており，関係機関には徹底した管理が義務付けられている。近年では，有害物質の排出抑制技術が進歩したが，環境の保全がさらに徹底されるためには，現場で迅速に対象物質の濃度をチェックできる技術が不可欠である。

こうしたニーズに対して従来広く用いら

れてきたイオン試験紙や溶液比色法は，今日の厳しい規制の下での水質管理には測定感度が不足しており，また，複雑なマトリクスが共存する，いわゆる汚い試料には適用できない場合が多い。そこで著者らは，高性能薄層クロマトグラフィー（TLC）に着目した。TLCは，複雑なマトリクスから目的成分を分離できる高い能力を持ち，かつ結果を一目で確認できる「その場分析」に適した数少ない手法の一つである。金属錯体が過剰の配位子と空間的に引き離される分離場では，解離反応の遅い錯体だけが安定に存在することができ，特定の金属イオンに対する選択性が発現することが知られているが，著者らも，

TLC 分離において同様のケースを経験してきた。また、高速液体クロマトグラフィーとは異なり、分離場での錯体組成変化や移動相と固定相の界面に錯体分子が析出する現象を分離・検出モードとして応用することができる。

著者らはこれまで、人間の目の持つ優れた視覚能力を最大限に利用する簡易型の分析法の開発を行ってきており、特にここではヒトの目の高い色識別能力に着目して、金属イオン種の同定に関する定性的な情報を色の種類で、濃度情報を色の濃淡でそれぞれ表現することを考えた。こうした考え方の上で、本研究では、重金属イオン種について何がどれだけ含まれているのかが一目でわかる目視分析法の開発を目指した。

2. 研究の目的

本研究では、特定の重金属イオンを選択的かつ高感度で目視検出できる手法の開発を目的とする。そこで、TLC 分離を用いる分析法開発を行うにあたり、①金属イオンの種類によって見た目に異なる色となる試薬（具体的には、ピリジルアゾ化合物やポルフィリン群）を用いて、選択的な検出を可能とする組み合わせの探索と、②固定相との特異的な相互作用を持つ錯体を形成する試薬（具体的には、アルミニウムイオンと 2,2'-ジヒドロキシアゾベンゼンの 1:1 錯体）を用いて、マトリクス耐性の向上のための手法開発に焦点を絞り、それぞれの分析性能の評価を行った。

3. 研究の方法

(1) TLC プレートの調達と前処理

TLC プレートは、MERCK 製 HPTLC RP-18 (No.5914) を、ダイヤモンドカッターを用いて 2 × 5 cm に切断し、恒温乾燥器を用いて 120°C、2 時間の熱処理を施したものを使用した。

(2) 基本実験操作

所定の方法で作成した錯体水溶液は、マイクロピペットを用いて ODS シリカプレート上に導入した。必要に応じてプレートを乾燥させた後、プレートの端を展開溶媒に浸して

室温にて TLC 分離を行った。展開槽には容量 100 mL のガラス製合口つぼを用いた。

(3) TLC プレート上のスポットの評価

TLC プレート上のスポットにおける反射吸光度、反射蛍光強度測定には、二波長フライングスポットスキヤニングデンシトメータ（島津 CS-9300PC）を用いて、所定の波長に合わせたビームをプレート上でのスポット全体をカバーするようにスキヤニングして、得られたデンシトグラムピーク面積にて評価した。反射蛍光強度測定では、蛍光測定用付属装置（光源：キセノンランプ）を取り付けて使用した。

4. 研究成果

(1) テトラキス(4-カルボキシフェニル)ポルフィン(TCPP)を用いる亜鉛イオンの目視検出

水溶性ポルフィリンを用いての高速液体クロマトグラフィーによる金属イオンの定量分析は五十嵐らの報告例がある。本研究では、これらの事例を参考にして TCPP を発色試薬として用いて、ODS シリカを固定相とする逆相 TLC による微量亜鉛(II)イオンの目視定量法を開発を行った。

本研究では、マグネシウム(II)、アルミニウム(III)、カルシウム(II)、クロム(III)、鉄(III)、コバルト(II)、ニッケル(II)、銅(II)、亜鉛(II)、銀(I)、カドミウム(II)、水銀(II)、鉛(II)について金属 TCPP 錯体の TLC 挙動を観察した。その結果、ODS シリカ上で亜鉛(II)、銅(II)、カドミウム(II)、水銀(II)の各金属イオン濃度に依存したスポットのみが選択的に現れ、特に、発蛍光性の亜鉛(II)錯体が黄色のスポットとして良好に分離・検出されることを見出した(図1)。また、このスポットに紫外光を照射すると赤色の蛍光を示した。銅、カドミウム、水銀錯体及び遊離の TCPP も原点から移動し、この時のそれぞれのスポットの色は赤、青紫、赤紫、及び橙色であった。亜鉛および銅錯体の色の違いは、ソーレー帯の吸収波長の違いが反映したものであるが、カドミウムまたは水銀イオンの存在によって出現する青色は、本実験操作では TLC 分離後に初めて観測されるもので

あり、極めて興味深い現象である。その他の金属錯体は分離の途中でスポットが消失し、プレート上では確認されなかった。したがって、ODS シリカプレート上で黄色のスポットを与えるのは、遊離の TCPP を除いて亜鉛錯体のみであり、色の種類からただちに目視で亜鉛(II)イオンを識別できる上、色の濃淡及び蛍光の強弱を観測する 2 種類の検出法が利用できることがわかった。色の濃淡を用いる手法では、 $3 \times 10^{-6} \sim 1 \times 10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$ の範囲で、微弱蛍光の強弱を用いる手法では $8 \times 10^{-7} \sim 5 \times 10^{-6} \text{ mol dm}^{-3}$ の範囲でそれぞれ目視による定量が可能であり、これらの併用によって幅広い定量範囲が実現することが分かった。また、デンストメトリー法を用いて評価したところ、反射吸光測定では $0 \sim 5 \times 10^{-6} \text{ mol dm}^{-3}$ の範囲で、一方反射蛍光強度測定では $0 \sim 3 \times 10^{-6} \text{ mol dm}^{-3}$ の範囲で良好な直線となった。また、本法を、廃止鉱山周辺より採取した河川水中の亜鉛イオンの目視検出に適用したところ良好な結果を得た。

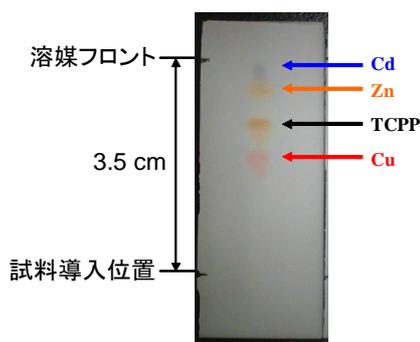


図 1. TCPP を用いた場合の金属錯体の分離の例 展開溶媒：メタノール

(2) 2-(5-ブロモ-2-ピリジルアゾ)-5-[N-n-プロピル-N-(3-スルホプロピル)アミノフェノール(5-Br-PAPS)を用いる金属イオン種の同時目視検出

ピリジリアゾ化合物の錯体は、金属イオンに対して非選択的に反応し、中心金属イオンの種類に対して錯体の吸収スペクトルの形状が異なる。そこで本研究では、これらの性質を利用して、5-Br-PAPS を発色試薬として用いて、ODS シリカを固定相とする逆相 TLC による微量金属イオンの目視定量法の

開発を行った。

本研究では、マグネシウム(II)、アルミニウム(III)、バナジウム(V)、マンガン(II)、鉄(III)、コバルト(III)、ニッケル(II)、銅(II)、亜鉛(II)、モリブデン(VI)、カドミウム(II)、鉛(II)を中心金属とする 5-Br-PAPS 錯体の TLC 挙動を観察した。その結果、アセトニトリル/水 (90:10 (w/w)) を移動相溶媒として用いたとき、バナジウム(V)、コバルト(III)、鉄(III)、ニッケル(II)、銅(II)錯体のみが選択的に ODS シリカプレート上に、それぞれ青色、青紫色、紫色、赤色、赤紫のスポットとして表れて相互に分離された (図 2)。これ以外の金属錯体は、クロマトグラフィーの分離途中で消滅してスポットは観測されなかった。このとき、銅錯体はスポット原点に固定され、赤紫色の濃淡によって目視定量できることが分かった。このときの目視検出限界は、試料溶液 0.5 μL において $1 \times 10^{-6} \text{ mol dm}^{-3}$ であった。一方、バナジウム(V)、コバルト(III)、鉄(III)、ニッケル(II)についてもスポットの色の濃淡から目視定量が可能であり、それぞれ試料溶液目視検出限界は、試料溶液 5 μL において $1 \times 10^{-6} \text{ mol dm}^{-3}$ であった。また、デンストメトリーを用いる反射吸光測定による評価では、各錯体ともに、 $0 \sim 1.2 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$ の範囲で良好な直線となった。

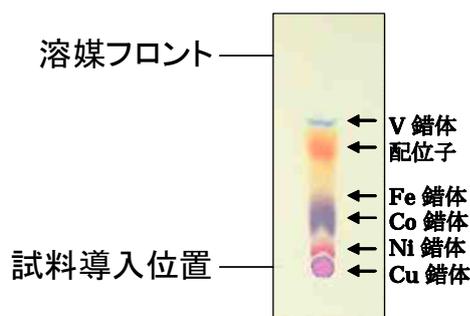


図 2. 5-Br-PAPS を用いた場合の金属錯体の分離の例 展開溶媒：アセトニトリル/水 90/10 (w/w)

(3) ODS シリカプレートを用いるアルミニウムイオンの選択的スポットテスト

著者らは、アルミニウムイオンと 2,2'-ジヒドロキシアゾベンゼンからなる 1:1 錯体がオ

クタデシルシラナイズド(ODS)シリカへ特異的に吸着する現象を利用して、 $\mu\text{g L}^{-1}$ レベルのアルミニウムイオンを特異的に分離検出する手法について報告した。この方法では、水を含まない有機溶媒を移動相として用いたとき、TLC分離において発蛍光性のアルミニウム錯体だけがスポット原点に残り、他の金属錯体や過剰の配位子は溶媒フロント付近まで移動して分離された。また、試料溶液はエタノール/水(1+4)溶液として調製して、ODSシリカプレート上で液滴とし、これを蒸発乾固させることで、試料溶液が広がることなく、液滴とプレートの接触面に濃縮される。したがって、アルミニウム錯体はこの接触面に濃縮された状態を維持したまま分離検出されるので高感度目視検出が達成される。しかしながら、 $\mu\text{g L}^{-1}$ レベルのアルミニウムイオンは実験室環境でも容易に混入し、また、プレート上の液滴を蒸発乾固することに伴う塩類の析出がしばしば測定の妨害となっていた。そこで、本研究では、液滴としてプレートに導入した試料を乾固することなく、液滴状のままTLC分離を行う手法について検討した。その結果、アルミニウムイオンに対する高い選択性を維持しつつ、マトリクス耐性を向上させることに成功した。また、液滴として導入した試料溶液を乾燥させずにTLC分離を行うことは、結果としてスポット原点におけるODSシリカ由来のアルミニウムイオンの汚染を回避する上で有効であり、スポット原点での蛍光を目視で認識できる加減濃度は、 $1.0 \mu\text{g L}^{-1}$ であった。デンシトメーターを用いる反射蛍光強度測定では、アルミニウムイオン濃度 $0 \sim 1.0 \times 10^{-6} \text{ mol dm}^{-3}$ の範囲で良好な直線となり、このときの検出下限は、 $8 \times 10^{-9} \text{ mol dm}^{-3}$ ($0.2 \mu\text{g L}^{-1}$)であった。

以上、本研究では、金属イオン種の同定に関する定性的な情報を色の種類で、濃度情報を色の濃淡でそれぞれ表現できるTLC法、ならびにマトリクス耐性のより優れた手法としての新しいTLCの技法について提案した。これらいずれの手法も、現場において金属イオン濃度を管理するうえで有用な技術となるものと期待できる。

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2件)

①藤田貴子, 室月祥枝, 土屋沙織, 水口仁志, 片桐洋史, 志田惇一, テトラキス(4-カルボキシフェニル)ポルフィンを用いる逆相薄層クロマトグラフィーによる亜鉛イオンの目視定量, 分析化学, **58** (2009), 印刷中, 査読有

工藤祐生, 高橋直, 額賀恒次, 水口仁志, 遠藤昌敏, 志田惇一, 液滴試料の逆相薄層クロマトグラフィーによるppbレベルのアルミニウムイオンの選択的スポットテスト, 分析化学, **57**, 273-277 (2008), 査読有

[学会発表] (計4件)

水口仁志, 藤田貴子, 志田惇一, ODSシリカ上での金属-ポルフィリン錯体の色彩特性を利用する亜鉛およびカドミウムイオンの目視同時検出, 平成20年度化学系学協会東北大会, 2008年10月11-13日, 八戸

藤田貴子, 水口仁志, 志田惇一, ODSシリカプレート上でのポルフィリン錯体の特異発色現象を利用する亜鉛およびカドミウムイオンの同時目視検出, 日本分析化学会第57年会, 2008年9月10-12日, 福岡

③藤田貴子, 水口仁志, 志田惇一, ODSシリカプレートを用いるカドミウムイオンの選択的目視定量, 平成19年度化学系学協会東北大会, 2007年9月21-23日, 山形

④藤田貴子, 水口仁志, 志田惇一, ODSシリカプレート上での選択的発色を用いる微量カドミウムイオンの目視検出, 日本分析化学会第56年会, 2007年9月19-21日, 徳島

[図書] (計0件)

[産業財産権]

○出願状況 (計1件)

名称：金属成分の検査方法
発明者：飯山真充，水口仁志，藤田貴子
権利者：野村マイクロ・サイエンス株式会社
種類：特許
番号：特願 2008 -183336 号
出願年月日：平成 20 年 7 月 15 日
国内外の別：国内

○取得状況（計 0 件）

〔その他〕

研究室ホームページ

<http://mizu-labo.yz.yamagata-u.ac.jp/>

6. 研究組織

(1)研究代表者

水口 仁志 (MIZUGUCHI HITOSHI)
山形大学・大学院理工学研究科・助教
研究者番号：30333991

(2)研究協力者

片桐 洋史 (KATAGIRI HIROSHI)
山形大学・大学院理工学研究科・助教
研究者番号：40447206