

養成技術者の研究・研修成果等

1. 養成技術者氏名： 高橋 由紀子

2. 養成カリキュラム名： 高度環境計測技術

3. 養成カリキュラムの達成状況

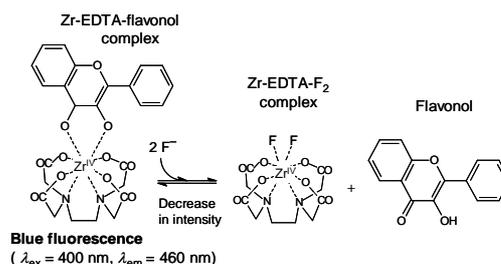
高度環境計測技術の開発として、環境管理・保全または生体関連分析に資することを目標とし、規制値のあるような微量有害物質の簡易計測法の創出に関する研究を遂行した。平成13年度～平成14年度にかけては溶液系の分析法、フッ化物イオンの蛍光センシング法、生理活性物質カテコールアミンの蛍光センシング法およびアミノリン酸系除草剤の簡易蛍光センシング法の開発を行った。平成15年度は“膜”分析法に展開し、鉛イオン検出用のオプティカルフィルムの開発を行った。特許5件、論文7報、口頭発表5件、新聞発表1件の成果を対外向けに発表した。また成果を実用化に繋げるために、産官学フォーラムおよび成果発表会等に参加し、企業からの引き合いも多数あった。

4. 成果（A4版3枚程度）

今後の環境計測ニーズに対応するため、時間・エネルギー・コストのかかる機器分析に替わる、“だれでも・安く・その場でできる”高性能な簡易テスト法の開発を試みてきた。特に、河川水、水道水、工業廃水等の水溶液サンプル中の環境規制値のある微量有害物質を、色や蛍光の変化で簡易に計測する高性能化学分析システムを目標とした。溶液や薄膜の単一系内にターゲット物質の選択的認識および吸光・蛍光等のシグナル化など、分析に必要な機能を集積した。溶液系での配位子置換反応に基づくアニオン類の分析法として、1) フッ化物イオンの蛍光センシング法、2) 生理活性物質カテコールアミンのエネルギー移動蛍光による蛍光センシング法および3) 除草剤として広く使用されているアミノリン酸の蛍光センシング法の開発に成功した。また、汚濁試料にも適用できかつ前処理の要らない“膜”を使った分析法として、4) 鉛イオン検出用のオプティカルフィルムの開発を行った。全ての分析法は、養成カリキュラム中に新しく発見した化学反応系に基づいている。

1) フッ化物イオンの蛍光センシング法

工業排水および環境試料水中のフッ化物イオンのモニタリングは重要であり、環境基準値が0.8 mg/l(ppm)と定められている。本法は、有機配位子フラボノールがジルコニウム(IV) - エチレンジアミン四酢酸錯体に結合し強い青色蛍光を示すこと、およびフッ化物イオンがフラボノールと置換反応しこの蛍光が減少するという明快な原理に基づく(Scheme 1)。分析手順は検液に試薬溶液を添加し、その青色蛍光の強度を測定するという簡便なものである。フッ化物イオンの添加に従い、Fig. 1のように蛍光強度は減少した。最適pH範囲は4.5～6.0であり、また1 ppm以上添加時には25℃下1分以内に反応は完了した。蛍光強度とフッ化物イオン濃度の対数値($\log([F^-])$)との検量線より、定量範囲は60 ppb～20 ppmと広範囲であり、0.2 ppm添加時の変動係数は0.6% (5回測定)と再現性も良好で、環境基準値(0.8 ppm)も十分な精度で測定できる。加えて、蛍光シグナルは一週間以上安定であった。妨害イオンの検討を行なった結果、フッ化物イオン0.2 ppmに対し、塩化物イオン、硫酸イオン、硝酸イオン、リン酸イオンは100倍モル量加えても妨害しなかった。一方、アルミニウム(III)、鉄(III)、銅(II)等の金属イオンは等モル量程度で妨害を示したが、マスキング剤として過剰なEDTAを添加することで、妨害の除去に成功した。



Scheme 1 Ligand exchange reaction of Zr(IV)-EDTA-flavonol complex with fluoride ion.

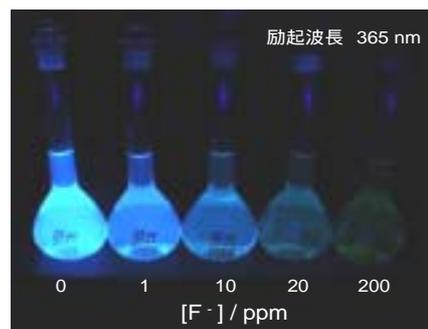
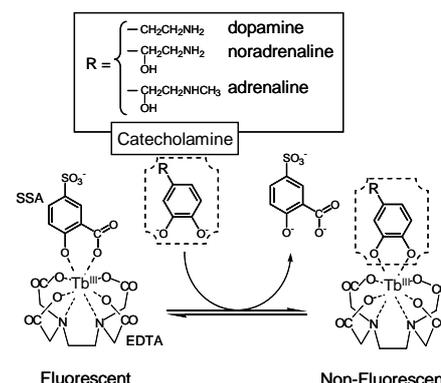


Fig. 1 Photograph of fluorescence irradiated by handy UV lamp (Ex: 365 nm).

蛍光光度計を使用した詳細な分析はもちろん、ハンディ UV ランプの照射によりサンプル採取したその場で目視分析することも可能である。従来の呈色法(アリザリンコンプレクサン)のような長時間の加熱操作が不要であり、かつ他の陰イオンの妨害が少なく、上記基準値も十分に判定可能な感度も有している。

2) カテコールアミンの簡易蛍光センシング法

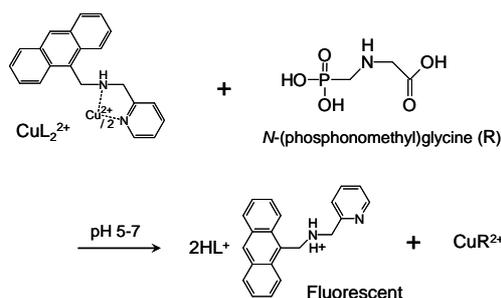
カテコールアミンとはドーパミン、ノルアドレナリン、アドレナリンに代表される、カテコール核とアミングループを持つ生理活性物質の総称である。本法は、テルビウム(III) - エチレンジアミン-*N,N,N',N'*-テトラ酢酸(EDTA) - 5-スルホサリチル酸三元錯体のエネルギー移動発光という特異なシグナルを利用している。ここで2座配位子5-スルホサリチル酸は受光分子として働き、吸収された光エネルギーは分子内遷移を経た後、Tb(III)に流れ、Tb(III)内の遷移が発光として観測される。特に受光分子とTb(III)間のエネルギーマッチングがエネルギー発光の鍵を握る。そのためカテコールアミンもスルホサリチル酸同様、Tb(III)-EDTAと三元錯体を生成するが、Tb(III)からの発光は観測されない。これを応用し、Tb(III)-EDTA錯体をレセプターとして、スルホサリチル酸をエネルギー移動発光のシグナル分子として利用し、配位子交換反応を利用することで簡易定量法を確立した(Scheme 2)。分析手順は検液に試薬溶液を添加し、その黄緑色発光の強度を測定するという簡便なものである。蛍光光度計を使用した詳細な分析はもちろん、ハンディ UV ランプの照射によるオンサイト目視分析も可能である。



Scheme 2. Ligand exchange reaction of Tb-EDTA-SSA complex with catecholamine.

3) アミノリン酸系除草剤の簡易蛍光センシング法の開発

N-(フォスホノメチル)グリシンに代表されるアミノリン酸系除草剤は、水溶性で比較的毒性が少なく生物分解性が良いため世界で最も多く用いられている。自然界や農作物における当除草剤の残留量のモニターのため、高感度で簡便な定量法が求められている。本法は、*N*-(9-アントラメチル)-2-ピリジルメチルアミンの蛍光が銅イオンとの錯体形成により消光し、ここにアミノリン酸系除草剤を加えると、配位子交換反応が起こり、再び蛍光強度が増大する現象に基づいている(Scheme 3)。*N*-(9-アントラメチル)-2-ピリジルメチルアミンは、光エネルギーを受容するアントラセン部分と、金属イオンを捕捉するピリジルメチルアミン部分からなり、酸性から中性付近で強い蛍光を示すが、常磁性イオンである銅イオンと錯形成すると消光する。この溶液に *N*-(フォスホノメチル)グリシンを添加すると、銅イオンを奪い取り、添加量に応じて遊離した *N*-(9-アントラメチル)-2-ピリジルメチルアミンが、再び蛍光を発する。分析手順は検液に試薬溶液を添加し、励起波長 368 nm、蛍光波長 419 nm の強度を測定するという簡便なものである。本反応は室温で迅速に進行し、検量線は 40 ppb - 0.4 ppm の範囲で良好な直線性を持つ。加えて、可視部に蛍光を持つため、ハンディランプを用いた目視による判定が可能であること、試薬ならびにその金属錯体が水溶性であることから、アミノリン酸系除草剤を含む、河川水、湖沼水、地下水などの環境水試料中や、農作物中のアミノリン酸系除草剤のモニターやイオンクロマト分離後の迅速定量に対し、きわめて実用価値が高いと言える。



Scheme 3. Ligand exchange reaction of Cu-*N*-(9-anthrylmethyl)-2-pyridylmethylamine(L) with *N*-(phosphonomethyl)glycine(R)

4) 鉛イオン検出用のオプティカルフィルム

当フィルムは、一枚の膜に分析に必要な鉛イオンの選択的抽出および吸光シグナル化機能の集積を試みたもので、抽出試薬としてジベンゾ-18-クラウン-6-エーテル、シグナル化物質として青色の陰イオン性色素テトラプロモフェノールフタレインエチルエーテル(TBPE)を用い、これに可塑剤を加えたPVC薄膜から成る。この膜中で鉛-ジベンゾ-18-クラウン-6-エーテル錯体がTBPE⁻とイオン対を生成することで、鉛イオン濃度に依存して緑~紺~赤紫と色相変化する現象を新たに見出し、これを鉛検出フィルムへ応用した。

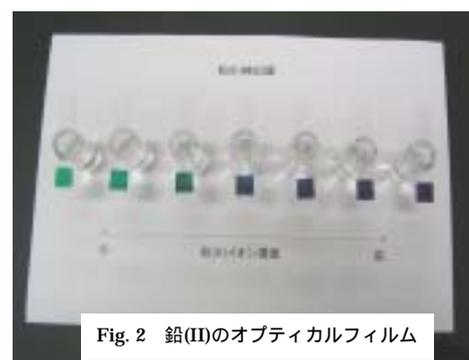


Fig. 2 鉛(II)のオプティカルフィルム

フィルムであるため、前処理や分離操作が不要、元試料溶液の着色・汚濁にも無関係、保存が容易、その場で目視計測が可能であり、また光ファイバ分光器の先端に装着することで光センサーとも成りうる。膜の色は Fig. 2 にあるように MES 緩衝液下では、鉛(II)イオン濃度に依存して元の緑色から紺、赤紫色へと連続的に変化する。TBPE の pK_a 前後での色変化、黄（酸性側）～青（アルカリ性側）とも異なるため、赤紫色は鉛 - ジベンゾ-18-クラウン-6-エーテル錯体と TBPE とのイオン対によるものであり、色素同士あるいは L のベンゼン環と色素との相互作用により、色素の電子状態が摂動を受けているものと推定している。発色の最適 pH 範囲は 6 - 8 であり、反応が飽和するまでに 5 ~ 10 分程度を要した。また、色変化が最も明瞭となるのは、L と TBPE が等モル量の時であった。525 nm の強度を測定、もしくは標準色列との比較により目視で ppm ~ 数十 ppm の鉛イオンが計測可能であり、発色した膜は少なくとも数週間保存可能であった。

5. 成果の対外的発表等

(1) 論文発表 (論文掲載済、または査読済を対象。)

- 1) Yukiko Takahashi, David A. Pacheco Tanaka, Hideyuki Matsunaga and Toshishige M. Suzuki, "Fluorometric detection of fluoride ion by the ligand exchange reaction with 3-hydroxyflavone coordinated to Zr(IV)-EDTA complex", *J. Chem. Soc., Perkin 2*, **2**, 759 (2002).
- 2) Hiroaki Matsumiya, Yukiko Terazono, Nobuhiko Iki and Sotaro Miyano, "Acid Base properties of sulfur-bridged calix[4]arenes", *J. Chem. Soc., Perkin 2*, **6**, 1166 (2002).
- 3) Yukiko Takahashi, David A. Pacheco Tanaka, Hideyuki Matsunaga, and Toshishige M. Suzuki, "Switching of Terbium(III)-sensitized Luminescence by Ligand Exchange Reaction: Determination of Catecholamines", *Chem. Lett.*, **2002**, 722.
- 4) Takako Nagase, Yukiko Takahashi, Toshishige M. Suzuki, Takeo Ebina, Yoshito Wakui, and Yoshio Onodera, "Fluorometric Detection of p-Chlorophenol by ZnTPP-Intercalated Dialkyl Ammonium Smectite", *Chem. Lett.*, **2002**, 776.
- 5) Hiroaki Matsumiya, Hideharu Masai, Yukiko Terazono, Nobuhiko Iki and Sotaro Miyano, "Chelating Adsorbent for Heavy Metal Ions Prepared by Loading Anion-Exchange Resin with Thiocalix[4]arenetetrasulfonate", *Bul. Chem. Soc. Jpn.*, **76**, 133 (2003).
- 6) Abjitt Chatterjee, Toshishige M. Suzuki, Yukiko Takahashi, and David A. Pacheco Tanaka, "A Density Functional Study To Choose the Best Fluorophore for Photon-Induced Electron-Transfer (PET) Sensors", *Chem. Eur. J.*, **9**, 3920(2003).
- 7) 松永英之, 高橋由紀子, 鈴木敏重, "無機有害イオンの高感度簡易目視検出", *検査技術*, **2**, 5(2004).

(2) 口頭発表 (発表済を対象。)

- 1) 高橋由紀子, Pacheco Tanaka Alfred, 松永英之, 鈴木敏重, "ジルコニウム(IV)-EDTA 錯体に配位したフラボノールの配位子交換反応を利用するフッ化物イオンの蛍光センシング", 第 81 回日本化学会春季年会, 2002 年 3 月
- 2) 高橋由紀子, Pacheco Tanaka Alfred, 松永英之, 鈴木敏重, "テルビウム(III)錯体のエネルギー移動発光シグナルによるカテコールアミンの簡易定量 - 配位子交換反応の利用 -", 第 82 回日本化学会秋季年会, 2002 年 9 月
- 3) 高橋由紀子, 松永英之, 鈴木敏重, "ジベンゾ - 18 - クラウン - 6 と陰イオン性色素 TBPE を用いる鉛検出膜の作製", 日本分析化学第 52 年会, 2003 年 9 月
- 4) 高橋由紀子, 鈴木敏重, "高性能簡易化学分析システムの開発", 第 4 回 AIST 産学官交流フォーラム(エネルギー関連技術), 2003 年 9 月
- 5) 高橋由紀子, 鈴木敏重, "高性能簡易化学分析システムの開発", 第 1 回産総研グリーンサステナブルケミストリー成果発表会, 2004 年 1 月

(3) 特許等: 5 件