

「水溶性ホウ素の簡易分析に資する擬キレート配位子金属錯体試薬の開発」

甲南大学理工学部 岩月 聡史

1 研究の背景と目的

ホウ素化合物は人体への健康被害が懸念されており、現在の我が国の省令では、環境基準がホウ素濃度で 1 mg/L [1]、公共用水域に排出される「ほう素及びその化合物」の排出基準が 10 mg/L 以下[2]と定められている。このような排出規制物質をモニターすることは、水質保全の観点から極めて重要である。

ホウ素の定量分析には、従来、有機呈色分析試薬による吸光光度法のほか、誘導プラズマ (ICP) 発光分光分析法、ICP 質量分析法、蛍光フローインジェクション分析法 (FIA) などが用いられている。しかし、これらの分析法では、高価な、あるいは特殊な測定装置を必要とするほか、有機呈色試薬との反応時間が長く、試料溶液の煮沸などの煩雑な実験操作を必要とする。つまり、従来の分析法では試料採取現場での『その場分析』は困難であり、また分析にかかるコストが高いといった課題がある。

当研究グループでは、水溶液中のホウ素化合物を短時間で容易に分析できる比色分析試薬の開発に取り組んでいる。比色分析試薬は、機器分析に比べて精度や感度は劣る一方、色 (光吸収あるいは発光特性) の変化により分析可能な点で手軽であり、簡易分析法として有望である。しかしながら、上述の通り有機分析試薬による水溶性ホウ素の比色分析反応は迅速な分析には適しない。また、ホウ酸類と安定な錯体を形成することが知られている有機ジオール化合物は、反応の際に光特性の変化が可視光領域に見られず比色分析には適しない。このように、有機化合物のみに着目したホウ素分析試薬による簡易分析法の確立は困難であり、新しい観点から戦略的にホウ素の分析化学を検討する必要がある。

以前より我々は「金属錯体の光特性変化を利用するホウ素の分析化学反応」を提案し (Fig. 1)、ルテニウム(II)錯体を用いたホウ素の発光分析反応を報告した[3]。しかし、同一配位子内にジオール部位をもつ金属錯体 (Fig. 1, 2a) は比色分析可能ではあっても、ホウ酸との反応部位が金属中心から遠く、検出部位である金属錯体の配位構造や光特性に大きな変化が起こらないため、感度が低いと予想される。

そこで本研究では、高感度なホウ素分析が可能となる“擬キレート配位子”という分子設計を採用した金属錯体を開発し、水溶性ホウ素の比色分析について検討を行った。“擬キレート配位子”錯体は、Fig. 2b に示すように、錯体内の各配位子と金属中心を含む『擬似的なキレート配位子骨格』を示す。この“擬キレート配位子”はジオール類と類似した骨格である。つまりホウ酸との錯体形成反応では、錯体の金属中心とホウ素を含むキレート環が形成されるため (Fig. 2b)、金属錯体の配位構造や電子状態は大きく変化し、それゆえ、反応に伴う大きな光特性変化を生み出すと期待される。

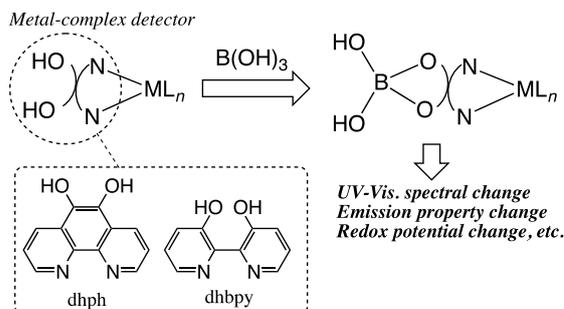


Fig. 1. 金属錯体試薬によるホウ素の分析化学反応.

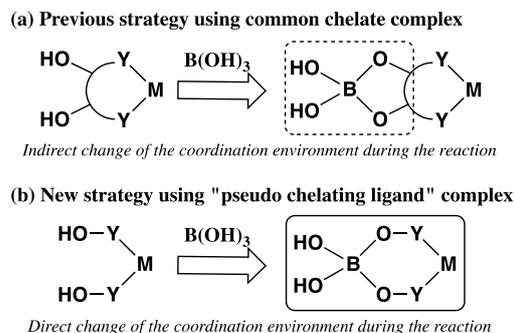


Fig. 2. (a) 従来のジオール配位子錯体、および(b) “擬キレート配位子”錯体によるホウ素の分析化学反応.

## 2 研究方法・研究内容

### 1) “擬キレート配位子” 錯体の合成

本研究ではピリジン-2-アルドキシム誘導体 (Fig. 3) を採用し、金属錯体の合成を行った。この配位子の二つの窒素原子は金属イオンにキレート配位するため、複数の配位子がキレート配位することによって“HO-N-M-N-OH”という Fig. 2b の“擬キレート配位子”骨格が形成される。金属中心としては、比較的安価な金属である亜鉛(II)、鉄(II)、コバルト(II)、銅(II)、ニッケル(II)を候補とし、それぞれの金属イオンに対して2当量あるいは3当量のピリジン-2-アルドキシム誘導体を水/アルコール混合溶媒中で反応させることにより、ピリジン-2-アルドキシム誘導体が複数配位した種々の金属錯体を合成した。同定は、ICP 発光分光分析あるいは原子吸光分析による錯体中の金属イオン含有量の測定、ならびに反磁性錯体についてはNMR分析により行った。なお、合成した錯体は各種溶媒への溶解度を調べ、水溶性の高い錯体について、水溶性ホウ素との分析化学反応の検討を行った。

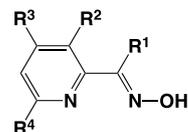


Fig. 3. ピリジン-2-オキシム誘導体 ( $R^1 \sim R^4 = H$  or  $CH_3$ )

### 2) 水溶性ホウ素との反応の検討

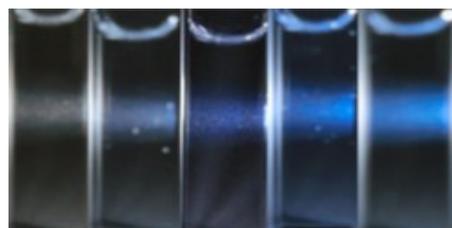
常温常圧下、ホウ素濃度が数 1000 mg/L 程度以下の水溶液中におけるホウ素の主要化学種はホウ酸 ( $B(OH)_3$ ) とホウ酸イオン ( $B(OH)_4^-$ ) である[4]。そこで、上記1) で合成した水溶性の高い錯体について、pH 緩衝剤により pH を一定に保った水溶液中における可視紫外吸収スペクトル測定および蛍光スペクトル測定を、ホウ酸が存在する条件と存在しない条件で行った。大きな光特性 (光吸収・発光) 変化の起こった錯体について、ホウ酸との反応の溶液内化学平衡解析を行い、分析条件の最適化を行った。

## 3 研究成果

### 1) 金属-ピリジン-2-アルドキシム誘導体錯体の合成と水溶性ホウ素との反応

様々なピリジン-2-アルドキシム誘導体 (Fig. 3) を用いて各種金属錯体の合成を試みた。その結果、水への溶解度の高く、かつ純粋で安定な化合物として得られたのは、亜鉛(II) および銅(II)を金属中心とし、ピリジン-2-アルドキシム ( $R^1 \sim R^4 = H$ 、以後 HpaO と記す) が2分子配位した錯体の硫酸塩であった。同定の結果、それぞれ  $[Zn(HpaO)_2]SO_4$  と  $[Cu(HpaO)_2]SO_4 \cdot 3H_2O$  として単離されることがわかった。いずれの錯体も合成が簡単であることは、本研究の目指す「安価で使いやすい分析試薬」に適しているといえる。

これらの二つの錯体について、水溶液中におけるホウ酸との反応が観測されるか否かを吸光光度法および蛍光光度法により定性的に調べた。その結果、銅錯体は有意な光特性変化が見られなかったが、亜鉛錯体については、ホウ酸の濃度の増加に従って青色の発光が強くなることが明らかになった (Fig. 4)。この結果は、亜鉛錯体  $[Zn(HpaO)_2]SO_4$  を水溶性ホウ素の分析試薬として用いることができることを示している。また、水溶液中のホウ酸濃度の増加に伴って発光強度が増加することから、この亜鉛錯体はホウ素の検出のみならず、発光強度を利用したホウ素濃度の定量分析も可能であることを示唆している。そこで、 $[Zn(HpaO)_2]SO_4$  によるホウ酸の分析反応の最適条件について検討した。



(0) 少 ← (ホウ酸添加量) → 多

Fig. 4.  $[Zn(HpaO)_2]SO_4$  水溶液中にホウ酸を添加したときの発光の様子。(溶液 pH はすべて pH 8.3 に保った)

## 2) 亜鉛-ビス(ピリジン-2-アルドキシム)錯体によるホウ酸の分析反応条件の検討

過去の研究[5]より、ホウ酸（酸解離定数  $pK_a^B = 9.0$ ）とジオール配位子（酸解離定数  $pK_a^L$ ）とのキレート錯体形成反応（Fig. 1 参照）が最も進行する最適 pH ( $pH_{opt}$ ) は、 $pH = (pK_a^B + pK_a^L)/2$  のときであることを明らかにしている。したがって、ジオール類と類似の骨格を“擬キレート”により形成した  $[Zn(Hpao)_2]SO_4$  について、酸解離定数 ( $pK_a^L$ ) を決定できれば、この錯体によるホウ酸の分析化学反応の最適 pH 条件を求めることができる。そこで、 $[Zn(Hpao)_2]SO_4$  の酸解離平衡について検討した。

$[Zn(Hpao)_2]SO_4$  水溶液の吸収スペクトルの pH 依存性を分光滴定により測定した結果を Fig. 5 に示す。吸収スペクトルは、 $pH < 5$ 、 $pH 5 \sim 9$ 、 $pH > 9$  の 3 つの領域でそれぞれ異なる等吸収点をもつ変化を示した。NMR 法による検証の結果、 $pH < 5$  では  $[Zn(Hpao)_2]^{2+}$  錯体の酸分解反応が、 $pH > 9$  では塩基加水分解反応が起こることが示唆された。言い換えれば、この錯体の分解反応は  $pH 5 \sim 9$  の領域では起こらず、錯体が安定に存在していると予想される。この結果に基づき、 $pH 5 \sim 9$  の領域における吸収スペクトル変化は  $[Zn(Hpao)_2]^{2+}$  錯体の酸解離平衡によるものと帰属した。SPECFIT プログラム[6]による解析の結果、 $[Zn(Hpao)_2]^{2+}$  錯体の酸解離定数  $pK_a^L = 7.5 \pm 0.1$  ( $25^\circ C$ 、イオン強度  $0.15 \text{ mol/L NaCl}$ ) を得た。したがって、 $[Zn(Hpao)_2]SO_4$  を用いたホウ酸の分析反応が最もよく進行する最適 pH 条件は、 $pH_{opt} = (9.0 + 7.5)/2 = 8.3$  であると考えられる。

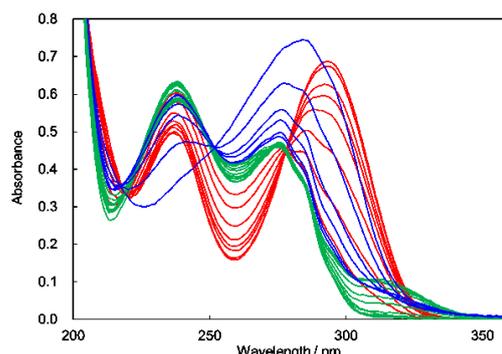


Fig. 5.  $[Zn(Hpao)_2]SO_4$  水溶液の吸収スペクトルの pH 依存性 ( $25^\circ C$ ,  $I = 0.15 \text{ M NaCl}$ ).  $pH < 5$  (赤)、 $pH 5 \sim 9$  (緑)、 $pH > 9$  (青)で変化のパターンが異なる。

## 3) 亜鉛-ビス(ピリジン-2-アルドキシム)錯体によるホウ酸の蛍光分析

最適 pH 条件 ( $pH 8.3$ ) における  $[Zn(Hpao)_2]SO_4$  によるホウ酸の分析化学反応の蛍光スペクトル測定を行った。錯体溶液 ( $0.5 \text{ mmol/L}$ ) 中のホウ酸濃度を変化させ、励起波長  $370 \text{ nm}$  の光を溶液に照射することにより、Fig. 6 に示すように  $441 \text{ nm}$  の極大蛍光波長をもつ蛍光強度の増加が観測された。また、 $441 \text{ nm}$  の発光強度について、ホウ酸濃度（ホウ素濃度）との相関を調べたところ、Fig. 6 に示すように、ホウ素濃度で  $10 \text{ mg/L}$  を超えた濃度領域で蛍光強度が直線的に増加することが明らかになった。なお、この分析反応が完結するまでの時間スケールは、最長で約 5 分程度であった。

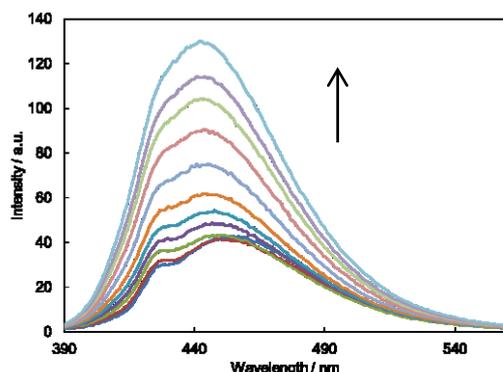


Fig. 6.  $[Zn(Hpao)_2]SO_4$  とホウ酸との反応における蛍光スペクトル変化（ホウ酸濃度を変化させて測定）。錯体濃度  $0.5 \text{ mmol/L}$ 、 $25^\circ C$ 、 $I = 0.15 \text{ M NaCl}$ 。

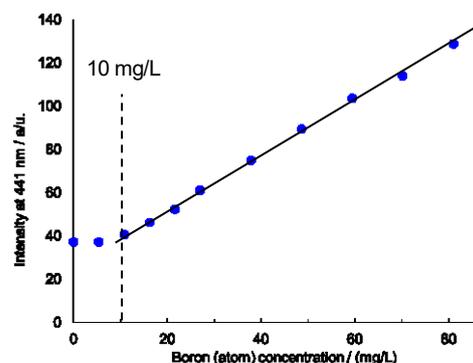


Fig. 7. Fig. 6 の蛍光極大波長  $441 \text{ nm}$  における蛍光強度のホウ素濃度依存性。

以上の結果は、本研究の“擬キレート”配位子金属錯体である[Zn(Hpao)<sub>2</sub>]SO<sub>4</sub>が水溶性ホウ素の定量分析にも利用可能であり、かつ分析反応の時間スケールも比較的短いため、従来の比色分析試薬によるホウ素分析よりも分析時間を短縮できる点で優れているといえる。

なお、この分析反応系では錯体濃度 0.5 mmol/L の条件で 10 mg/L のホウ素濃度まで蛍光強度の増加は見られなかった (Fig. 7)。この理由については現段階では不明であり、今後さらなる反応解析を行う必要がある。一方で、「ほう素及びその化合物」の我が国の排出基準は 10 mg/L 以下であることから、排出基準を上回ったときのみのみ発光する警告センサーとして実用性の高い展開が期待される点で極めて興味深い。

#### 4 生活や産業への貢献および波及効果

本研究により、ホウ酸との反応部位を導入した“擬キレート”配位子金属錯体である[Zn(Hpao)<sub>2</sub>]SO<sub>4</sub>は、比較的短い時間スケールで容易に水溶液中のホウ素化合物であるホウ酸と反応し、発光特性が大きく変化することが見出された。すなわち、従来の比色分析試薬の課題であった分析化学反応速度が遅い点を解決した。特筆すべきは、本研究で見出した最適分析条件では、ホウ素濃度が排出基準の 10 mg/L を超えた濃度から発光が観測される点である。これは「ほう素及びその化合物」の排出基準を上回ったときのみのみ発光する警告センサーとしての応用展開が期待される点で極めて興味深いといえる。今後の分子設計のさらなる改良により、排出基準を超えるホウ素濃度において、肉眼で判別できるほど大きな光特性変化が観測される分析試薬が開発できれば、ホウ素の排出基準を満たすか否かを『その場分析』で簡単に判別できる実用性の高い簡易分析法となり得るため、ホウ素化合物を取り扱う諸分野に対して大きく貢献するものと考えている。

#### 参考文献

- [1] 環境省『水質汚濁に係る環境基準について』(別表1), 環境省告示第59号, 1971年12月告示, 最新改正2016年4月, <http://www.env.go.jp/kijun/mizu.html>.
- [2] 環境省『一律排水基準』, <http://www.env.go.jp/water/impure/haisui.html>.
- [3] E. Nakano, S. Iwatsuki, M. Inamo, H. D. Takagi, K. Ishihara *Talanta* **2008**, 74, 533.
- [4] P. Atkins, T. Overton, J. Rourke, M. Weller, F. Armstrong, “*Inorganic Chemistry*”, 4th ed., Oxford University Press, Oxford, **2006**, Chapter 12.
- [5] Y. Furikado, T. Nagahata, T. Okamoto, T. Sugaya, S. Iwatsuki, M. Inamo, H. D. Takagi, A. Odani, K. Ishihara, *Chem. Eur. J.* **2014**, 20, 13194.
- [6] R. A. Binstead, B. Jung, A. D. Zuberbühler, *SPECFIT/32™ Global Analysis System*, ver. 3.0 for 32-bit Windows systems, Spectrum Software Associates, Marlborough, **2000**.