

超微量元素分析のための機能性バイオマスの開発

大下 浩司

水溶液内の極微量な元素を高感度に分析するために、バイオマスの一つであるキトサンを基材の原料として目的の金属イオンに対して選択性を有するキトサン樹脂を開発し、実際の水試料中に含まれる極微量な元素の分析に応用した。本年度は、(1)水溶液内微量元素分離・濃縮のためのキレート官能基を有するキトサン樹脂の新規合成、(2)水溶液内微量元素の捕集挙動に係る吸着メカニズムの解明、(3)水試料中微量元素分析のための簡易分析システムの開発に取り組んだ。本稿では、本年度の研究の概要について紹介する。

1. はじめに

極微量な元素を感度、精度、確度よく測定することは、化学に関連した研究分野のみならず生体、環境、食品、工業など幅広い分野において、その重要性は高まっている。文化財の研究分野においては、文化財を構成する材料の成分組成や含有量の分析データは、素材の発達史や輸送経路の推測、あるいは古代社会の理解や文化財を探究するために、極めて重要な情報になり得る。また、そのような文化財の材料分析のためのみでなく、文化財周辺の環境動態を解明する際にも、微量元素分析は有用な手段となる。我々と同じように文化財は地球環境の中に存在しており、近年の環境汚染や地球温暖化による影響を少なからず受けているため、そのような自然環境の中に存在している物質、特に文化財に悪影響を与える有害物質について、その動態を解明する必要がある。その一方で文化財に含まれる有害物質の溶出や揮散により生じる環境汚染の影響も無視することはできず、有害物質の化学種やその濃度の分布を経時変化とともに調査しなければならない。そのように幅広い視野に立って研究・調査を行うために、超微量元素分析に関する研究は肝要である。

極微量な元素を高感度に分析するためには、ICP-MS（誘導結合プラズマ質量分析法）やICP-AES（誘導結合プラズマ発光分析法）、AAS（原子吸光分析法）等による分析が行われている。そのような分析をする際には、試料中に極微量しか存在しない目的成分の前濃縮や、測定を妨害する高濃度マトリックスの分離のための前処理が必要であり、また厳密な分析を行うためには、高度な技術と専門知識をもって試料の測定やデータ解析等を行う必要がある。

本研究では、そのような前処理・前濃縮の操作に活用することのできる新しい固相抽出剤の開発に力を注いだ。水溶液内の極微量な元素を選択的に濃縮するために、一般的には市販のキレート樹脂やイオン交換樹脂がしばしば利用されている。あるいは、さらに高性能な分離・濃縮剤の開発を目指して、多くの研究者らによって様々なタイプのキレート樹脂が開発されている。しかしながら、水溶液内の金属イオンのキレート樹脂への吸着に係るメカニズム解明に着目した研究はほとんどなく、研究途上の段階にある。さらに本研究では、熟練した分析技術や煩雑な分析操作を必要とすることなしに、簡易に高感度な分析を実現するための簡易分析システムの開発に取り組んだ。本稿では、それらの研究の一部について概要を紹介する。

2. 研究内容

2. 1 水溶液内微量元素分離・濃縮のためのキレート官能基を有するキトサン樹脂の新規合成^{1,2}

水溶液内の目的元素を選択的に吸着・濃縮し、高濃度のマトリックスを効率よく分離するために、キレート樹脂を用いた前処理・前濃縮法が利用されている。市販のIDA基（イミノ二酢酸基）を有するキレート樹脂は、水溶液内の重金属元素や希土類元素等を多元素同時に濃縮するのに優れており、ICP-MSやICP-AESによる測定の際の前濃縮剤として一般的に使用されている。目的の金属イオンと安定なキレートを生成することのできる官能基を基材に導入したキレート樹脂は多くの研究者らによって報告されている。しかしながら、基材に導入されたキレート官能基と金属イオンによる単純なキレート生成のみに頼るキレート樹脂濃縮では高選択的に目的の金属イオンのみを捕集するには限界がある。

本研究では基材の原料として一級のアミノ基（ $-NH_2$ ）を有するキトサンを使用した。キトサンの一級のアミノ基は反応活性であり、キレート官能基の導入に適している。あるいは、導入したキレート官能基とキトサン自身のアミノ基による金属イオンへの配位によって、目的の金属イオンに対する選択性を飛躍的に向上させることができると考え、キトサンを基材としたキレート樹脂の開発に取り組んだ。

水溶液内の微量元素分離・濃縮のための材料開発は、(1)吸着速度がはやいこと、(2)吸着容量が大きいこと、(3)濃い酸やアルカリへの基材の耐性が高いこと、(4)目的のイオンに対する吸着選択性に優れていること、(5)マトリックス分離が可能なことに加え、その合成が単純かつ容易であることなどが必要である。本研究でキレート樹脂の基材の原料として用いるキトサンは、一般的な有機基材や無機基材と比較して誘導體化が容易であり、親水性の高いキトサンは水溶液内のイオンを素早く吸着することができる。その一方で、濃い酸やアルカリに溶けやすいという欠点をもつが、キトサンの6位の一級の水酸基（ $-OH$ ）に、親水性の高い長鎖架橋剤を用いて架橋を施すことによって、金属イオンの吸着に適した柔軟な構造をもち、濃い酸やアルカリにも溶けない基材へと誘導體化することができる。そのような架橋キトサンを基材として、キレート官能基を有する種々のキトサン樹脂を開発した。キレート官能基はキトサンのアミノ基に直接あるいはそのアミノ基にスペーサーアームを介して導入することができる。これまでの研究成果からキレート官能基をキトサンのアミノ基に直接導入するよりも、スペーサーアームを介してその末端にキレート官能基を導入した方が、キレート官能基の空間的自由度が増すため金属イオンに配位しやすくなり選択性が向上することを明らかにしている。

まず、基材である架橋キトサンの金属捕集挙動について検討したところ、中性付近において銅や銀、塩酸中からは水銀や白金、金、パラジウム等の貴金属元素を吸着することができた。そのほかBi(III)もある程度吸着することが可能であるが、架橋キトサンへのBi(III)の定量的な吸着は難しかった。これまでにBi(III)を選択的に分離・濃縮することのできる優れたキレート樹脂は開発されておらず、本研究では水溶液内の微量なBi(III)に対する吸着性能の向上を目指し、新規なキトサン樹脂の合成に取り組んだ。キトサンのアミノ基よりも酸解離定数の小さいカルボキシル基（ $-COOH$ ）による化学修飾を考え、アミノ酸の一種であるグリシンをキトサン基材に導入することによってその問題解決を試みた。合成したグリシンを有するキトサン樹脂（グリシン型キトサン樹脂）は、水溶液内の微量なBi(III)を酸性から中性領域において定量的に吸着することが可能で、樹脂に吸着したBi(III)を容易に溶離することもできた。

合成したグリシン型キトサン樹脂は環境水中の極微量なBi(III)を高倍率に濃縮することが可能であり、高濃度なマトリックス成分を効率よく分離することができるため、ICP-MSを用いたBi(III)の高感度定量の際の前処理・前濃縮剤として十分な性能を発揮した。

そのほか、極微量なU(VI)定量の際の分離・濃縮剤の開発を目指して、フェニルアルソン酸を官能基として有するキトサン樹脂(フェニルアルソン酸型キトサン樹脂)を新規に合成した。フェニルアルソン酸試薬は一般にU(VI)定量の際の沈殿試薬として知られており、U(VI)に対する特異的な錯形成能を有している。そのため、フェニルアルソン酸により化学修飾したキトサン樹脂はU(VI)を選択的に吸着できると予測した。新規に合成したフェニルアルソン酸型キトサン樹脂は、吸着条件や溶離条件、吸着容量において期待通り優れた性能を発揮した。大量のマトリックスを含む水溶液内でも極微量なU(VI)を高倍率に濃縮し、高濃度なマトリックス成分を分離することができることを実証し、ICP-AESを用いた環境水中の微量なU(VI)の高感度定量に成功した。

2. 2 水溶液内微量元素の捕集挙動に係る吸着メカニズムの解明³

目的の金属イオンと錯形成することのできる官能基をキトサン基材に導入することによって、水溶液内微量元素の分離・濃縮に活用することができる。さらに、その分離・濃縮性能を向上し、目的の金属イオンに対して極めて選択性の高いキトサン樹脂を開発するためには、キトサン樹脂の化学構造を精密に制御し、捕集挙動を系統的に比較検討する必要がある。そこで、グリシンと同様にアミノ基とカルボキシル基を有するアミノ酸のバリン、ロイシン、セリンを官能基として導入したキトサン樹脂をそれぞれ合成し、それらの金属イオン捕集挙動について詳細に検討した。それらのアミノ酸(グリシン、バリン、ロイシン、セリン)は、 α 位の炭素原子にアミノ基とカルボキシル基を有し、さらにその炭素原子に $-H$ 、 $-CH(CH_3)_2$ 、 $-CH_2CH(CH_3)_2$ 、 $-CH_2OH$ の各官能基が結合している。キトサン樹脂に導入したアミノ酸のアミノ基とカルボキシル基が金属イオンと錯形成する際に、それらの近傍にある官能基($-H$ 、 $-CH(CH_3)_2$ 、 $-CH_2CH(CH_3)_2$ 、 $-CH_2OH$)が錯形成の際に立体障害となり、金属イオンの吸着性能に少なからず影響を及ぼすと予測した。それらのアミノ酸(グリシン、バリン、ロイシン、セリン)を有するキトサン樹脂の金属捕集挙動について検討したところ、希土類元素に対しては、そのような立体障害に起因する吸着性能の影響が顕著であり、金属イオンと錯形成する官能基の近傍にある立体障害が大きくなるほど希土類元素に対する吸着性能は低下した。その一方で特定の重金属イオンに対しての吸着性能は相対的に向上することが明らかになった。これまでにキレート樹脂の吸着性能に及ぼす諸因子については詳細に解明されておらず、本研究によって吸着メカニズムの一部が解明され、目的の金属イオンに対する選択性向上のための有用な知見を得ることができた。

2. 3 水試料中微量元素分析のための簡易分析システムの開発^{4,5}

水試料中微量元素の濃縮と高濃度マトリックス成分の分離のために、キレート樹脂をミニカラムに充填し、手操作により前処理を行うバッチカラム法がある。その際、使用するカラムの本数に応じて、より多くの試料を一度に前処理することができる。しかしながら、コンタミネーションや測定誤差をまねく恐れがあり、分析操作が煩雑になるという欠点を抱えている。本

研究では前処理におけるコンタミネーションの低減と測定精度の向上を目指してオンラインで前処理、測定することの可能なシステムの開発を目指した。

その一方で、水試料中のU(VI)を高選択的に捕集・濃縮することのできるキトサン樹脂の開発を目指して、セリンを官能基として有する2種類のキトサン樹脂を合成した。セリンは一級の水酸基と一級のアミノ基、およびカルボキシル基もっており、その水酸基あるいはアミノ基の位置でキトサン基材に導入することによって2種類のセリン型キトサン樹脂を合成した。その金属捕集挙動を比較検討したところ、一級の水酸基でキトサンに導入したセリン型キトサン樹脂は水溶液内の微量U(VI)に対して優れた吸着性能を示した。

さらに、そのセリン型キトサン樹脂を充填したミニカラムをオンラインでICP-MSに接続し、U(VI)の捕集と溶離、マトリックスの分離を行い、その溶離液をオンラインでICP-MSに導入し、測定することのできる簡易分析システムの開発に成功した。それによって試料前処理操作におけるコンタミネーションの低減化、前処理と測定操作の簡素化を実現した。その一連の分析操作を全自動化し、更に高性能な簡易分析システムを開発することが今後の課題である。

3. まとめ

水試料中の微量元素を測定する際には、ICP-MSやICP-AES、AAS等が、高感度な分析法として利用されている。そのような高感度分析の際には、水試料中の極微量な目的元素の濃縮や高濃度マトリックス成分を効率よく分離することが必要である。

本研究では、微量元素の濃縮と、高濃度マトリックスの分離に優れたキレート官能基を有するキトサン樹脂の開発に取り組んだ。その一方で、金属イオンの分離・濃縮に係る吸着メカニズムを解明するために、系統的な化学構造をしたキトサン樹脂を合成し、それらの金属捕集挙動を比較検討することによって、立体障害に起因する吸着メカニズムを解明した。さらに、分析の迅速、簡便、高感度化を図るため、合成したキトサン樹脂を用いて簡易分析システムを開発し、実試料に応用することに成功した。

本研究の一部は文部科学省科学研究費補助金若手研究(B)(No.19710016)、平成19年度八雲環境科学振興財団環境研究助成および吉備国際大学共同研究費により行われた。ここに厚く感謝申し上げます。また御支援、御協力頂いた方々に心より御礼申し上げます。

参考文献

1. K. Oshita, O. Noguchi, M. Oshima, and S. Motomizu, *Anal. Sci.*, **2007**, 23, 1203.
2. K. Oshita, K. Seo, A. Sabarudin, M. Oshima, T. Takayanagi, and S. Motomizu, *Anal. Bioanal Chem.*, in press.
3. K. Oshita, T. Takayanagi, M. Oshima, and S. Motomizu, *Anal. Sci.*, **2007**, 23, 1431.
4. K. Oshita, T. Takayanagi, M. Oshima, and S. Motomizu, *International Symposium on Flow-Based Analysis VII, Chiang Mai*, **2007**, P-29.
5. L. Hakim, A. Sabarudin, K. Oshita, M. Oshima, S. Motomizu, *Talanta*, **2008**, 74, 977.

所属：吉備国際大学 文化財学部 文化財修復国際協力学科