

# 有機高分子化合物を利用する 無機化学成分の選択的分離と捕集法

堀 智孝\*、谷口 延子\*、  
玉田 知子\*、藤永 太一郎\*\*

## 1. はじめに

アミノ酸の一次元高分子縮合体、いわゆるタンパク質には、極めて基質特異性の高い反応を担うものがある。酵素と称されるものである。

酵素の特異性の本質に迫ることは、化学者の永年の夢の一つであって、生命の新たな化学進化論的解釈を得ることと並んで、その特異性を様々な化学反応系に応用できるからである。また、酵素が生体内に在って、脂質膜との間で精微な相互作用を保ちながら、目的成分を膜の内から外へあるいはその逆の方向へと不可逆的に輸送する現象は、未だ人工的に再現できない至高の選択分離系である。

酵素の特異性、そしてこれが分子の輸送反応と結びついて実現する選択的分離現象を人工的に再現しようとする試みが盛んである。酵素の活性中心の構造あるいはそれに類似の構造を合成高分子の中に再現しようとする研究である。分子設計と称されるこれらの研究の一部は既に試行の段階を終え、構造や性質が酷似する化合物の混合体から目的物のみを選択的に分離抽出する方法として、実用に供されている。

本稿は、合成高分子を混合して形成される会合体が、その高分子の組合せと混合比を調整することによって、酵素に類似するような特異的分離が実現するのではないかという見通しに立って、この分野の研究の進展の状況を調査し、併せて、天然並びに合成有機高分子化合物が吸着剤として機能する際の構造化学的特性を考察したものである。

## 2. タンパクと金属イオン

この両者の関わりの研究は、生理学の分野で活発である。本節では、その中の代表的な数件を取り上げ、タンパクが金属イオンに対して示す特異性を描いてみる。

### 2.1 結合部位の構成と化学量論

Yang and Black [1] は、義足の補強材として体内に埋め込まれる Cr-Co 合金が腐食を受けて微量の不純物である Ni と共に血液中に溶解混入する事例について、血清中のタンパクとこれらの金属イオンとの反応を実験で確かめている。血清タンパクの代表にアルブミンを選んだとき、(i) 結合の強さは  $Ni^{2+}$

\*京都大学 人間・環境学研究所 \*\* (財)海洋化学研究所

>  $\text{Co}^{2+} \sim \text{Cr}^{3+}$  であること、(ii) タンパク 1 mol に対して 2 mol の  $\text{Ni}^{2+}$  あるいは  $\text{Co}^{2+}$  が結合するが、 $\text{Cr}^{3+}$  は飽和することなく反応し、8 mol 以上になるとタンパクとの反応物が沈殿し始めること、(iii)  $\text{Cr}^{3+}$  のタンパクへの結合は、 $\text{Co}^{2+}$  あるいは  $\text{Co}^{2+}$  と  $\text{Ni}^{2+}$  の混合物が共存すると著しく阻害されること、(iv)  $\text{Co}^{2+}$  の結合は  $\text{Cr}^{3+}$  の共存で促進されるが、逆に、 $\text{Ni}^{2+}$  の共存で阻害されること、(v)  $\text{Ni}^{2+}$  の結合は、 $\text{Cr}^{3+}$  や  $\text{Co}^{2+}$  の共存に殆ど影響されないこと、(vi)  $\text{Co}^{2+}$ 、 $\text{Cr}^{3+}$ 、 $\text{Ni}^{2+}$  はいずれも不可逆的に強く結合し、 $\text{Ca}^{2+}$  が可逆的に結合するのと対照的であること、(vii)  $\text{Cu}^{2+}$  は結合に際して  $\text{Co}^{2+}$ 、 $\text{Cr}^{3+}$ 、 $\text{Ni}^{2+}$  と競争することなどが知られるようになった。以上の事実と金属イオンの錯形成反応に関する知見から、アルブミンとの結合において、 $\text{Co}^{2+}$  はカルボキシルとチロシン残基の両者に、また、 $\text{Ni}^{2+}$  はカルボキシル基に結合するのに対して、 $\text{Cr}^{3+}$  の結合には特定の残基が無いとの結論が導かれる。

Guthans *et al.* [2] は、同じく血清中のヒスチジン高含有糖タンパク (histidin-rich glycoprotein, HRG) を取り上げ、金属イオンとの結合の強さは  $\text{Zn}^{2+} \gg \text{Ni}^{2+} > \text{Cd}^{2+}$  の順であって、それぞれの金属イオンは 1 mol の HRG に対して 13、9、6 mol 結合すること、ヒスチジンを共存させると  $\text{Ni}^{2+}$  は結合しなくなるが  $\text{Zn}^{2+}$  と  $\text{Cd}^{2+}$  にはその影響が現れないこと、 $\text{Zn}^{2+}$  と  $\text{Ni}^{2+}$  の結合は互いに競争し合うことなどを明らかにしている。

金属イオンを取り入れるタンパク中の部位に関する研究をさらに 2 例紹介する。その第一は、 $^1\text{H-NMR}$  による緩和時間 ( $T_1$ ) の測定をもとにしたものであって、人血清アルブミン (human serum albumin, HSA) に対する金属イオンの効果を計測している。7 種類の金属イオンの効果を調べた結果、特に  $\text{Mn}^{2+}$  と  $\text{Cu}^{2+}$  が結合すると  $T_1$  が顕著に減少する、すなわち、これらのイオンが結合すると、HSA はそのイオンの周辺で立体構造を大きく変化させることになる [3]。

金属イオンの結合の様子を解析する第二の例は、 $\text{Tb}^{3+}$  の蛍光寿命をプローブとしてその周辺に結合する他の金属イオンがタンパクの構造をどのように変化させるのかを調べるものである。たとえば O' hara *et al.* [4] は、金属を輸送するタンパクの一種であるトランスフェリンについて、その一方の結合部位に  $\text{Tb}^{3+}$  を、他方に  $\text{Mn}^{2+}$  を結合させて、 $\text{Tb}^{3+}$  の蛍光寿命が短くなる様子を観測している。寿命の短縮は  $\text{Tb}^{3+}$  から  $\text{Mn}^{2+}$  へのエネルギー移動が容易になるためであって、この原理に基づいて、トランスフェリン中の  $\text{Tb-Mn}$  間距離を  $35.5 \pm 4.5 \text{ \AA}$  と見積もっている。また、この 2 つの部位に関して、 $\text{Nd}^{3+}$  と  $\text{Pr}^{3+}$  はイオン半径が大きいので一方にのみ入ること、 $\text{Cu}^{2+}$ 、 $\text{Co}^{2+}$ 、 $\text{Cr}^{3+}$ 、 $\text{Tb}^{3+}$ 、 $\text{Eu}^{3+}$ 、 $\text{Er}^{3+}$ 、 $\text{Ho}^{3+}$  といった小さいイオンは両方の部位に入りうることを明らかにしている。

Mohanty *et al.* [5] は、II 価金属イオンが共存すると、タンパクと ATP が金属イオンを取り込んだ三元化合物を形

成することを発見している。金属イオンの効果は $\text{Cu}^{2+}$ 、 $\text{Zn}^{2+}$ 、 $\text{Cd}^{2+}$ で顕著であるが、 $\text{Ca}^{2+}$ 、 $\text{Mg}^{2+}$ 、 $\text{Ni}^{2+}$ では余り目立つことはなく、金属イオンの特性が明瞭に区別される。この効果を利用して、タンパクの放射性同位元素 ( $^{32}\text{P}$ 、 $^3\text{H}$ ) による簡便な標識法が実現するが、この効果を金属の選択的分離に積極的に応用する道は未だ開かれていない。

Zachariou and Hearn [6] は、 $\text{Al}^{3+}$ 、 $\text{Ca}^{2+}$ 、 $\text{Fe}^{3+}$ 、 $\text{Yb}^{3+}$ 、 $\text{Cu}^{2+}$ の金属キレートとミオグロビン、チトクロームc、卵白リゾチームといったタンパクとの間の相互作用を系統的に比べ、この作用をタンパクの分離に応用している。しかし、この逆の手法、すなわちタンパクの個々の特性を金属イオンの選択的分離に応用するという試みは、未だ、本格化していない。

## 2.2 金属酵素

一群のタンパクでは、金属イオンが結合すると触媒活性が顕れる。いわゆる金属酵素である。金属と結合する部位は、通例複数個あって、そこに結合する金属イオンの種類とその組合せに応じて触媒能が変化する。人工的に合成した有機化合物ではほとんど再現できない、神秘的な機作が窺われる。

Kwok and Churchich [7] によると、ミオイノシトールモノフォスファターゼ (myoinositol monophosphatase) の結合部位は、 $\text{Gd}^{3+}$  と  $\text{SO}_4^{2-}$  が占めている。他方、基質の結合部位は  $\text{Mg}^{2+}$  と  $\text{PO}_4^{3-}$  が占めていて、触媒反応には  $\text{Mg}^{2+}$  の存在が不可欠である。酵素の結合部位には、 $\text{Gd}^{3+}$  に代わって  $\text{Tb}^{3+}$  と  $\text{Ca}^{2+}$  が結合しう

る。 $\text{PO}_4^{3-}$  によって酵素活性は阻害されるが、酵素の活性中心に  $\beta$ -グリセロリン酸などが結合することはない。

Knights *et al.* [8] によると、イーストピロフォスファターゼ (yeast inorganic pyrophosphatase) は  $\text{PO}_4^{3-}$  が不足すると、サブユニット1つあたり2個の  $\text{Mn}^{2+}$  と結合し、 $\text{PO}_4^{3-}$  が十分に存在すると3個の  $\text{Mn}^{2+}$  と結合する。 $\text{Mn}^{2+}$  以外には  $\text{Mg}^{2+}$  が酵素の活性剤となる。酵素活性には3個のII価陽イオンが必要であって、イオン間の距離は10~14 Å である。 $\text{Co}^{2+}$  や  $\text{Cr}^{3+}$  が結合すると  $\text{Mn}^{2+}$ - $\text{Mn}^{2+}$  間距離はそれぞれ7~9 Å 及び5~7 Å まで短くなる。3個の金属イオンが共働因子となるモデルが提案されている。

Burroughs and Horrocks, Jr. [9] によると、calcineurin は calcineurin-A (CaN-A) と calcineurin-B (CaN-B) とのヘテロ二量体であって、この中で CaN-B は4個の  $\text{Ca}^{2+}$  と結合する。この  $\text{Ca}^{2+}$  を  $\text{Eu}^{3+}$  に置き換えると、 $\text{Eu}^{3+}$  の  $^1\text{F}_0 \rightarrow ^5\text{D}_0$  励起スペクトルが観測できる。この手法によって  $\text{Ca}^{2+}$  の結合部位を精査した結果、4個の  $\text{Ca}^{2+}$  の結合部位I~IVに対する解離定数は  $K_d^{\text{I}} = 1.0 \mu\text{M}$ 、 $K_d^{\text{II}} = 1.6 \mu\text{M}$ 、 $K_d^{\text{III}} = 0.14 \mu\text{M}$ 、 $K_d^{\text{IV}} = 0.02 \mu\text{M}$  であって、前二者に対して後二者の結合が目立って強いこと、部位IIIとIVとの距離は10 Å 程度であることが分かった。

Cuypers *et al.* [10] によると、自然の状態の bovine eye lens leucine aminopeptitase は2個の  $\text{Zn}^{2+}$  イオンと結合 (この状態の酵素を  $\text{Zn}^{2+}$ - $\text{Zn}^{2+}$  と表記する) している。この金属イオンの一

方あるいは両方を他の金属イオンに置き換えるか、もしくは除去してアポ酵素とし、これらの各々の状態の酵素について、カルボキシメチル化反応で HS-基を定量したところ、酵素が天然の状態 ( $Zn^{2+}$ - $Zn^{2+}$ )、酵素を  $Mg^{2+}$  で処理した状態 ( $Zn^{2+}$ - $Mg^{2+}$ )、酵素を  $Mn^{2+}$  で処理した状態 ( $Zn^{2+}$ - $Mn^{2+}$ )、 $Co^{2+}$  で処理した状態 ( $Zn^{2+}$ - $Co^{2+}$ )、金属イオンを除いたアポ酵素、といったそれぞれの状態に対応して HS-基は 1、1、2、1、3 個であると計測された。金属イオンの種類によりカルボキシメチル化反応で修飾される HS-基の数が特徴的に変わることから、金属イオンの結合部位の形成に HS-基が主導的に関与することが分かる。

これらの例に限らずその他の多くの研究で、タンパクと金属イオンの特異な反応を見ることになるが、金属と反応したタンパクをその母液である水相から分離する手段が透析法やゲル濾過法に限定されるために、タンパクをさまざま金属イオンの捕集や分離に利用することはできない。この問題を解決するための工夫が様々な進められている。たとえば Spears and Vincent [11] は、金属酵素である卵白トランスフェリンやカルボキシペプチターゼ A を、アフィニティークロマトグラフの手法に倣って、セファロース、セファデックス、シリカゲル、アルミナ、多孔質ガラス表面に固定化し、これらを吸着剤として排水中から Cu、Hg、Fe、Mn、Zn、Al、W、希土類元素の回収を試みている。たとえば、CNBr 試薬でトランスフェリンをセファデックスに固定す

ると、この吸着剤は 0.1 M  $NaHCO_3$  (pH 7.25) 溶液中から各種の金属イオンを捕集し、捕集された金属は 0.05 M クエン酸ナトリウムで溶離される。同様の原理と操作法で、Th (IV) や Pu (IV) は HEPES (N-2-hydroxyethyl-piperazine-N'-ethanesulfonic acid, pH 7.35) 緩衝溶液から捕集され、0.2 M  $NaH_2PO_4$ /0.2 M NaOAc/0.004 M EDTA (pH 4) 緩衝溶液で溶離される。極端に低いあるいは高い pH 領域で使用しない限り、また、3ヶ月以内であればこの吸着剤は目立った劣化を示さない。

### 2.3 メタロチオネイン

カドミウムと結合するタンパクが単離されて以来、これに関する研究が進展している。メタロチオネイン (metallothionein, MT) と総称される含硫の低分子タンパクは、 $Cd^{2+}$ 、 $Hg^{2+}$ 、 $Zn^{2+}$ 、 $Cu^{2+}$ 、 $Ag^{+}$  といった金属イオンが外部からの刺激として加わったとき、その刺激によるストレスを軽減するための応答として誘導される。MT の 1 mol に対して金属イオンは 7 mol 程度結合し、分子を構成するアミノ酸残基の 30% はシステインである。 $Cd^{2+}$  に対する結合の強さは  $Zn^{2+}$  に対する場合の 3,000 倍であって、有機分子を用いる金属イオンの捕集と分離には見逃せない特質を有している (5.2 節参照)。

Bauman *et al.* [12] は、 $Cd^{2+}$  と並んで  $Zn^{2+}$  と  $Ni^{2+}$  による MT の誘導が顕著であること、しかし、 $As^{3+}$  ではこの作用が小さいことを観察している。

Kabzinski and Takagi [13] は、MT が  $Cu^{2+}$ 、 $Hg^{2+}$ 、 $Cd^{2+}$  と強く結合することを

逆に利用して、金属イオンを用いたアフィニティークロマトグラフ法によるMTの定量を試みている。

Vask *et al.* [14] は、ネズミやウサギから得られたMTについて、 $Cd^{2+}$ や $Zn^{2+}$ を結合させて二次元NMRを測定し、両者の間の構造上の相違を考察している。その他、Suzuki and Maitani [15] はゲル濾過法を併用して、MT分子内で $Zn^{2+}$ が $Cu^{2+}$ に置換される割合を測定し、また、Ohta *et al.* [16] は、システインを含有するペプチドを合成し、これが示す $Cd^{2+}$ の結合性を、天然のMTの一種、hMTII (human heatatic metallothionein II)のそれと比較している。さらにまた、Nielsen and Winge [17] は、同位体を用いた方法で、1 molのMTに $Cd^{2+}$ が5~7 mol結合することを確かめている。

### 3. 生物質材料 (biomaterials) と金属イオン

Lechavelier and Drobot [18] は、アヒルやニワトリの羽毛、ブタ毛、獣角などの動物由来のタンパク質を吸着剤として、Pt, Pd, Rhといった貴金属の捕集法を提案している。

木村 [19] は、1939~82年間の文献を詳しく調査し、吸着剤に用いられる各種の生物質材料(羊毛、卵白、わら、モミ殻、樹皮、おが屑、落花生の皮、玉ねぎの皮、クルミの外皮、綿、小麦粉、サトウキビの搾り滓、コンニャクマンナン、大豆タンパク質、緑茶がら、微生物、活性炭)とそれらに捕集される金属イオンを対比している。そして、これらの捕集法に関する未解決の問題点として、素材を水中に放置すると腐敗

変質すること、水に可溶性成分(低分子有機化合物)が漏出すること、素材が膨潤するのでもっぱらバッチ法で操作して、カラム法が適用しにくいことを挙げ、これらを解決するために素材の表面を化学修飾することの大事さを強調している。

### 4. 化学修飾を施したタンパク、カテキン類、多糖類、腐植酸

1974年、市木と石井 [20] は、金属イオンの捕集に際して、羊毛、ナイロン、ポリウレタンといった吸着剤を、一旦、NaOHや $Na_2S$ 水溶液に浸す(20℃, 5~60 min)と、吸着率が目立って改善されることを見出した。この処理を行った吸着剤を用いると、 $Cd^{2+}$ 、 $Zn^{2+}$ 、 $Pb^{2+}$ 、 $Cu^{2+}$ 、 $Ni^{2+}$ 、 $Fe^{3+}$ がpH3~10で吸着捕集され、これらのイオンは0.01 N以上の $H_2SO_4$ あるいはHCl溶液で溶離回収される。吸着率を一層向上させるという未解決の問題はあるが、この吸着剤が $Ca^{2+}$ や $Na^+$ イオンの共存に影響されない点を注目したい。

生体そのものや生物由来の高分子(biopolymers)を吸着剤とする方法が進展している。牛乳に含まれる栄養タンパクの一種カゼインはpH7以上で水に溶けるが、2%ホルムアルデヒドを室温で48h間作用させると、このタンパクは官能基であるカルボキシル基、フォスホン基、アミノ基を残したまま架橋し、水に溶けなくなる。処理後のカゼインの膨潤度はpH8.5で18%程度まで低下し、カラム法による金属イオンの捕集が可能となる。Davey *et al.* [21]はこの性質に着目し、架橋カゼイ

ンを用いて  $\text{CrO}_4^{2-}$  と  $[\text{UO}_2(\text{SO}_4)_2]^{2-}$  イオンの捕集に取り組んでいる。これによると、pH 2~3 (pH < 2 では、 $\text{HCrO}_4^-$  によるカゼインの酸化分解がおこる) で捕集された  $\text{CrO}_4^{2-}$  は、1 M  $\text{NH}_3$  で溶離回収されるし、溶離後のカゼインは希  $\text{H}_2\text{SO}_4$  で再生されるので、25 回以上の繰り返し使用に耐える。

ホルムアルデヒド処理を行って不溶化させた架橋カゼインに、さらに  $\text{CS}_2$  処理を重ねると、カゼインのチオール化が起こる。Winter [22a] はこの吸着体を用いて、 $\text{Zn}^{2+}$ 、 $\text{Co}^{2+}$ 、 $\text{Pb}^{2+}$  の捕集と、 $\text{Cu}^{2+}$  と  $\text{Fe}^{2+}$  の分離を試みている。

同様に調製したカゼインを用いて、粉山 [23a] は  $\text{Fe}^{3+}$ 、 $\text{Au}^{3+}$ 、 $\text{La}^{3+}$ 、 $\text{Yb}^{3+}$ 、 $\text{Sm}^{3+}$  の捕集を試み、併せて、この処理法が羊毛や大豆タンパクにも有効であると主張している。また、粉山 [23b] は、牛乳タンパク、大豆タンパク、ゼラチン、コラーゲンなどの生物質試料とアクリロニトリル、アクリルアミド、アクリル酸などのビニル単量体との間の混成縮合物に、新しい吸着剤としての機能を求めている。

Winter [22b] は、先に行ったカゼインのホルムアルデヒド処理が小麦、菜種、紅花、ひまわり、大豆から抽出される各種の植物性タンパクにも有効であると主張し、この吸着剤を用いると、pH 4 以下でアニオンの捕集が可能となるが、このとき I 価のアニオン及びカチオンは吸着しないことを確かめている。

木村ら [24] は、緑茶の粉末に同様のホルマリン処理を行ない、この茶葉を用いると Ag、Cd、Co、Cu、Mn、Ni、

Pb、Zn といった金属イオンが pH 6 付近で効率よく捕集できることを確かめている。ホルマリン処理によって、茶葉に含まれるカテキン類が重合して不溶化し、これらの金属イオンを捕集すると考えていよい。吸着したイオンは 0.1 M HCl で溶離できるので、吸着剤の繰り返し使用が可能である。捕集に際して  $\text{Cl}^-$  や  $\text{SO}_4^{2-}$  が共存すると、Cu と Pb の捕集率のみが低下する。これに関連して、木村 [25] は、Au、Mo、V イオンの捕集を試みている。これらのイオンは、ホルマリン処理の有無に関わらず pH 3~6 で茶葉に捕集されるが、吸着したイオンを吸着剤から定量的に回収のは困難である。

カニやエビの甲羅を粉砕し、化学処理によってタンパクと  $\text{CaCO}_3$  を除くと、水に不溶の多糖であるキチンが得られる。この物質を脱アセチル化するとキトサン [chitosan, poly-(N-acetyl-D-glucosamine)] に変わる。キトサンは、pH 6.6 以上で水に不溶であって、しかも多数の  $\text{NH}_2$ -基を有していて、いわゆる N、N-配位のキレート試薬と同様に、 $\text{Cu} > \text{Ni} > \text{Co} > \text{Zn}$  の順にこれらの金属イオンを捕集する。天然水中の微量金属イオンを定量する際の予備濃縮法への利用が始まっている [e.g., 26] 。

褐藻類から抽出されるアルギン酸は、多糖の骨格にカルボキシル基が結合したものである。 $\text{Ca}^{2+}$  などの II 価金属イオンを取り込んでゲル化するが、アルギン酸自体は水に可溶であって、これを直接捕集剤に利用する例はない。この中であって、Janget al. [27] は、 $\text{Cu}^{2+}$  (60 ppm 以上) を含む溶液中にアルギン



酸をピペッターチップ (200  $\mu$ l 用) から滴下し、このとき生じる粒径の揃ったアルギン酸ゲルの小球に  $\text{Cu}^{2+}$  が取り込まれる様子を定量的に解析している。 $\text{Cu}^{2+}$  の取り込みにはアルギン酸のカルボキシル基が2通りの方法で関与するが、その一つは  $\text{Cu}^{2+}$  との間の錯形成、他の一つはイオン対形成である。アルギン酸ゲルを吸着剤に用いるための取り組みが始まっている。

天然の土壌から抽出されてくる腐植酸の利用が始まっている。この物質が水溶性であるということが障害になって未だ多用されるには至っていないが、Ho and Miller [28] は、腐植酸が水和酸化鉄 (ヘマトイト) 表面に吸着され、これにウランが捕集される様子を調べている。ウランの濃度が  $1 \times 10^5 \text{ M}$  の時、 $\text{pH} 4 \sim 6$  の範囲で  $20 \sim 40\%$  の  $\text{U (VI)}$  が捕集される。腐植酸濃度が  $3 \sim 6 \text{ ppm}$  のように低いと、腐植酸が酸化鉄表面を十分に覆わないので吸着率は低く留まるし、逆に腐植酸が  $24 \text{ ppm}$  以上のように高くなると、 $\text{U (VI)}$  との間に可溶性の錯体が形成され、吸着率は低下し始める。これに対して中川 [29] は、腐植酸を加熱により不溶化する方法を試みている。まず、腐植酸 (亜炭) を硝酸で酸化してニトロフミン酸とし、これを加熱縮合して粒径  $0.5 \sim 1.5 \text{ mm}\phi$  の粒子に成形する。この粒子は、 $\text{Cd}^{2+}$  や  $\text{Hg}^{2+}$  を効率よく吸着し、キレート樹脂に類似の働きをする上に、金属イオンの吸着速度が大きいという利点を有している。吸着した金属イオンは、塩酸や食塩水で溶離されるので、吸着粒子の繰り返し使用が可能である。

上掲二例のバイオポリマー、すなわち、アルギン酸と腐植酸について、鈴木と関 [30] は両者の捕集剤としての機能を、酸解離特性、錯形成能、吸着剤への成形の難易度という観点から系統的に比較している。その結果、アルギン酸は  $\text{p}K = 3.2$  の一塩基酸、腐植酸は  $\text{p}K_1 = 4.2$  と  $\text{p}K_2 = 6.3$  の二塩基酸として扱ってよいこと、腐植酸は重金属イオンの吸着における選択性と容量の点でアルギン酸を凌ぐこと、そして、アルギン酸と腐植酸を吸着剤に成形するために残っている問題とその解決法の一つとして、アルギン酸-腐植酸-活性炭からなる複合型バイオポリマー吸着剤の調製が提案されている。

武者と高橋 [31a] は大豆タンパクが  $\delta$ -グルコノラクトンで固化することに着目している。この吸着剤を用いると、 $\text{Ag}$  から  $\text{Zr}$  に至る 23 種の元素が定量的に捕集されること、また、逆に  $\text{MoO}_4^{2-}$ 、 $\text{WO}_4^{2-}$ 、 $\text{VO}_3^-$  は捕集されないことを確かめている。なお、この捕集に際して、 $\text{NaCl}$  のような海塩の存在が大きな支障にならない。この方法を利用して、武者と高橋は海洋中の  $\text{Au}$  [31b]、 $\text{Hg}$  [31c]、 $\text{Cd}$  [31d] の定量を行っている。

## 5. 合成有機高分子化合物

### 5.1 可溶性化合物

多様な濾過膜の開発により、各種金属イオンの分離と捕集に対して限外濾過法 (ultrafiltration) の適用が一般化しつつある [32]。分子量  $20,000 \sim 30,000$ 、水に可溶性な合成高分子化合物を用意し、これを、目的とする金属イオンに反応させる。反応には、主としてイオン結

合と配位結合が利用される。有機物との反応によって高分子となった金属イオンが限外濾過膜を介して母液から分離される。濾過に際して、加圧 (2~数気圧) する必要があるが、この方法には従来の溶媒抽出法 (液・液分離) やイオン交換並びにキレート樹脂法 (固・液分離) の欠点を補う長所がある。すなわち、(i) 有機溶媒による抽出と違って、目的とした金属イオンが少容量の水相に直接回収されること、(ii) 均質一相系の反応であるので、樹脂を用いる場合と違って、高速の錯形成反応が期待できることである。次のような分離例が代表的なものである。

poly-(diallyl dimethylammonium chloride) [DADMAC] は、第4級アンモニウムを官能基とする合成高分子であって水に溶ける。水に可溶の陰イオン交換樹脂と言い換えてもよい。この化合物を水中の  $\text{AsO}_4^{3-}$  に作用させると、目的成分である  $\text{AsO}_4^{3-}$  は高分子となる。これは、膜を使った濾過法により共存する他のイオンから分離される [33]。同様に、poly-(ethyleneimine) [PEI] を用いて、 $\text{AsO}_4^{3-}$  [34]、 $\text{PO}_4^{3-}$  [35]、並びにその類縁の  $\text{SeO}_3^{2-}$ 、 $\text{CrO}_4^{2-}$  といったオキソ酸イオン [36] の分離が試みられている。しかし、金属を捕集する原理がイオン交換反応であるから、 $\text{NaCl}$ 、 $\text{NaNO}_3$ 、 $\text{Na}_2\text{SO}_4$ 、 $\text{Na}_2\text{CO}_3$  といった無機塩の共存による捕集効率の低下は免れ得ない。

一方、PEIは分子量30,000~40,000の水溶性キレート樹脂と考えるとよい。水溶液中の  $\text{Cu}^{2+}$  や  $\text{Ni}^{2+}$  といった遷移金属イオンはPEIに結合するので、膜分

離が可能になる。共存するアルカリやアルカリ土類金属イオンに影響されることがないので、海水試料への応用も試みられている [37]。また、PEIと金属イオンとの結合はpHに対して可逆であるから、pHの調節で金属イオンを回収し、遊離したPTIを繰り返して使用することが出来る。PEIの有用性を背景にして、Geckeler *et al.* は、poly-(vinylamine)、poly-(acrylic acid)、及びこれらの共重合体などの新たな水溶性高分子に着目し、さらに、これらの高分子を pyridine-2-aldehyde、thiourea、iminodiacetic acid、8-hydroxy quinoline などの官能基で修飾し、 $\text{Co}^{2+}$ 、 $\text{Ni}^{2+}$ 、 $\text{Fe}^{2+}$ 、 $\text{Cu}^{2+}$ 、 $\text{Cd}^{2+}$ 、 $\text{Pd}^{2+}$ 、 $\text{Hg}^{2+}$ 、 $\text{Ag}^+$ 、 $\text{Au}^{3+}$  の膜による分離の可能性 [38, 39, 40] を、また、極低濃度の  $\text{Co}^{2+}$ 、 $\text{Pb}^{2+}$ 、 $\text{Cd}^{2+}$  の陽極溶出ポルタンメトリ一定量に対する前処理の有用性 [41] を、さらにまた、 $\text{Re}^{7+}$  の電気泳動分離 [42] が実現することを発見している。ただし、PEIには毒性があることも分っている。

水溶性高分子の錯形成能と高分子錯体の膜分離を利用する上記の方法は、泥状固体試料 (土壌、使用済み触媒、塗料、鉱石など) 中からの金属イオン  $\text{Pb}^{2+}$ 、 $\text{Cr}^{3+}$ 、 $\text{Cu}^{2+}$ 、 $\text{Zn}^{2+}$ 、 $\text{Cd}^{2+}$ 、 $\text{Ni}^{2+}$ 、 $\text{Sn}^{2+}$ 、 $\text{Al}^{3+}$ 、 $\text{Mn}^{2+}$ 、 $\text{Hg}^{2+}$ 、 $\text{Ba}^{2+}$ 、 $\text{Ac}$  の分離と回収に適用されている。高分子化合物が有すべき分子骨格の特性とそれに導入されるべき官能基の種類と組み合わせが提案されている [43]。

## 5.2 不溶性化合物

水に不溶の高分子を用いると、膜による分離が不要になる。Yin and Blanch



[44] の試みはその1例であって、イミノジ酢酸を官能基とするキレート樹脂、いわゆる Chelex を基材に用いて、ここにチオール基を導入するものである。この不溶性高分子はメタロチオネイン (2.3 節参照) の金属捕集能に倣って合成されたものであって、果たして期待とおりに、 $\text{Cd}^{2+}$  に対して優れた結合力 ( $K_d = 2 \times 10^{-10}$ ) を有していて、これは  $\text{Zn}^{2+}$  に対する結合力の 25 倍である。 $\text{Cd}^{2+}$  は  $\text{NH}_4\text{Cl}$  や  $\text{KCN}$  といった強い隠蔽剤の共存下でも捕集される上に、pH 7 における捕集速度は  $2\text{M} \cdot \text{min}^{-1}$  (pH 11 ではこの 30 倍になる) のように優れている。また、捕集した  $\text{Cd}^{2+}$  は pH 2 に調整した  $\text{P}_2\text{O}_7^{4-}$  溶液で溶離して回収することができる。

## 6. おわりに

近年、湖沼や河川あるいは沿岸海水といった天然水の汚染が進行している。人間活動の激化に伴い、本来の自然条件では極めて低濃度でしか存在しない筈のリン酸や硝酸イオンなどが多量に流入負荷されたり、自然の分解浄化をはるかに超える量の有機化合物が排出されるためである。また、天然水中に直接廃棄されないにしても、産業活動の結果として化学成分の混合した廃水が貯留蓄積され、また、これと並んで化石燃料の消費に伴ってバナジン酸やセレン酸が大気中に放出される。様々の法的ないしは自主的規制によって、汚染の進行が鈍化しているのは確かであるが、これを改善すべき根本原理が見出せないままに、経済社会活動は閉塞状態に向かっている。新規物質の合

成と機能の開発が集中的に研究され、それらを何の制約もなく利用できる自由を享受している現代社会の明るさの裡に、使用を終えた物質の蓄積が深刻な陰を落すことになる。新規物質の開発研究が盛んであるのに対して、使用を終え劣化した物質の分離と回収に関する研究が遅々として進んでいないためである。各種化学成分の分離と回収に強い期待が寄せられている。本稿は、この取り組みの一環として有機化合物の無機化学成分に対する作用とその応用を述べたが、次稿では無機化合物の有機化合物に対する作用と応用を紹介する。

## 引用文献

- 1) J. Yang and J. Black, *Biomaterials*, **15**, 262-268 (1994) .
- 2) S. L. Guthans and W. T. Morgan, *Arch. Biochem. Biophys.*, **218**, 320-328 (1982) .
- 3) J. L. Barnhart and R. N. Berk, *Investigate Radiology*, **21**, 132-136 (1986) .
- 4) P. O' hara, S. M. Yeh, C. F. Meares and R. Bersohn, *Biochem.*, **20**, 4704-4708 (1981) .
- 5) B. K. Mohanty, Bh. M. Krishna and M. R. Das, *J. Biochem. Biophys. Methods*, **27**, 267-279 (1993) .
- 6) M. Zachariou and M. T. W. Hearn, *Biochem.*, **35**, 202-211 (1996) .
- 7) F. Kwok and J. E. Churchich, *FEBS Letters*, **346**, 304-306 (1994) .
- 8) W. B. Knights, D. D-. Mariano, S. C. Ransom and J. J. Villafranca, *J. Biol. Chem.*, **259**, 2886-2895 (1984) .

- 9) S. E. Burroughs and W. D. Horrocks, Jr., *Biochem.*, **33**, 10428-10436 (1994) .
- 10) H. T. Cuypers, L. A. H. L. Klaassen, W. T. M. V. Egberts, W. W. Jong and H. Biomedal, *J. Biol. Chem.*, **257**, 7086-7091 (1982) .
- 11) D. R. Spears and J. B. Vincent, *US Patent* 5441643 (1995) .
- 12) J. W. Bauman, J. Liu and C. D. Klaassen, *Fundamental Appl. Toxicol.*, **21**, 15-22 (1993) .
- 13) A. K. M. Kabziński and T. Takagi, *Biomedical Chromatogr.*, **9**, 123-129 (1995) .
- 14) M. Vasak, E. Wörgötter, G. Wagner, J. H. R. Kägi and K. Wüthrich, *J. Mol. Biol.*, **196**, 711-719 (1987) .
- 15) K. T. Suzuki and T. Maitani, *Biochem. J.*, **199**, 289-295 (1981) .
- 16) N. Ohta, Y. Okada and K. Tanaka, *Chem. Pharm. Bull.*, **31**, 3094-3103 (1983) .
- 17) K. B. Nielson and D. R. Winge, *J. Biol. Chem.*, **258**, 13063-13069 (1983) .
- 18) H. A. Lechavelier and W. Drobot, *Demande de Brevet D'invention*, 2475575 (1981) .
- 19) 木村優, 公害と対策, **19**, 341-346 (1983) .
- 20) 市来実, 石井正人, 特許公報 (特許出願公告) 昭 49-27744 (1974) .
- 21) P. T. Davey, D. R. Williams and G. Winter, *J. Appl. Biochem.*, **2**, 60-65 (1980) .
- 22) G. Winter, (a) *US Patent* 4261819 (1981); (b) 4355137 (1982) .
- 23) 舩山善次郎, (a) 公開特許公報 昭 57-4228; (b) 昭 57-4229 (1982) .
- 24) 木村優, 山下博美, 駒田順子, 分析化学, **35**, 400-405 (1986) .
- 25) 木村優, 科学研究費補助金成果報告書 (59470026) “生物質材料を用いる水中重金属類の捕集除去” pp. 11-14 (1986) .
- 26) S. A. Tirmizi, J. Iqbal and M. Isa, *J. Chem. Soc. Pak.*, **18**, 312-315 (1996) .
- 27) L. K. Jang, G. G. Gessey, S. L. Lopez, S. L. Eastman and L. P. Wichlacz, *Wat. Res.*, **24**, 889-897 (1990) .
- 28) C. H. Ho and N. H. Miller, *J. Colloid Interface Sci.*, **106**, 281-288 (1985) .
- 29) 中川雅直, 金属, **43**, 66-70 (1973) .
- 30) 鈴木翼, 関秀司, ケミカルエンジニアリング, **41**, 290-296 (1996) .
- 31) 武者宗一郎, 高橋芳久, (a) 分析化学, **24**, 365-370; (b) 395-399; (c) 535-539; (d) 540-544 (1975) .
- 32) K. E. Geckeler and K. Volchek, *Environ. Sci. Tech.*, **30**, 725-734 (1996) .
- 33) A. S. Legault, K. Volchek, A. Y. Tremblay and H. Whittaker, *Environ. Prog.*, **12**, 157-159 (1993) .
- 34) V. M. Shkinev, G. A. Vorob (eva, B. Ya. Spivakov, K. E. Geckeler and E. Bayer, *Sep. Sci. Tech.*, **22**, 2165-2173 (1987) .
- 35) V. Palmer, R. N. Zhou, K. E. Geckeler and E. Bayer, *Acta Hydrochim. Hydrobiol.*, **22**, 231-235 (1994) .
- 36) V. M. Shkinev, B. Ya. Spivakov, K. E. Geckeler and E. Bayer, *Solvent Extr. Ion Exch.*, **7**, 499-510 (1989) .

- 37) E. Petrochenkova, Yu. Dytner, K. Vollchek, G. Tokareva and D. Topchiev, *Sov. J. Wat. Chem. Technol.*, **12**, 104-112 (1990) .
- 38) K. E. Geckeler, G. Lange, H. Eberhardt and E. Bayer, *Pure Appl. Chem.*, **52**, 1883-1905 (1980) .
- 39) K. E. Geckler, E. Bayer, V. Ya. Spivakov, V. M. Shkinev and G. A. Vorob'eva, *Anal. Chim. Acta*, **189**, 285-292 (1986) .
- 40) R. Zhou and K. E. Geckeler, *Z. Naturforsch.*, **47b**, 1300-1306 (1992) .
- 41) I. V. Markova, V. M. Shkinev, G. A. Vorob'eva and K. E. Geckler, *Zh. Anal. Khim.*, **46**, 182-187 (1991) ; *J. Anal. Chem.*, **46**, 139-143 (1991) .
- 42) O. D. Prasolova, L. V. Borisova, V. M. Shkinev and K. E. Geckeler, *Zh. Anal. Khim.*, **48**, 62-66 (1993) ; *J. Anal. Chem.*, **48**, 85-90 (1993) .
- 43) B. F. Smith, N. N. Sauer and D. S. Ehler, *PCT (international patent)* WO96/38227.
- 44) J. Yin and H. W. Blanch, *Biotech. Bioeng.*, **34**, 180-188 (1989) .