

アミド結合を用いた弱酸性陽イオン交換樹脂へのヌクレオシドの固定化と  
ホウ酸吸着剤としての機能評価藤森崇夫<sup>1</sup>・高木一志<sup>1</sup>・平川大祐<sup>1</sup>・中村華奈<sup>1</sup>・吉村和久<sup>2</sup>Preparation and Evaluation of Novel type Borate Adsorbent Consisting of Weak Acidic  
Cation-Exchange Resins and Nucleosides Linking by Amide BondTakao FUJIMORI<sup>1</sup>, Kazushi TAKAGI<sup>1</sup>, Daisuke HIRAKAWA<sup>1</sup>, Kana NAKAMURA<sup>1</sup> and  
Kazuhisa YOSHIMURA<sup>2</sup>

(Accepted October 2, 2017)

**Abstract** The novel type borate adsorbents, which consist of weak cation-exchange resins and nucleosides (adenosine or cytidine) linked to each other by the amide bond, were prepared and their borate adsorbability was evaluated. Two different types of resins, one porous and the other highly porous, were examined to take into account the effect of physical structure differences on nucleoside linking. Regardless of the resin structure, about 30% carboxy groups of each resin were bonding with cytidine at the optimum conditions, however, the high porous type adsorbent had 10 times higher distribution ratio of borate than porous type one. This result indicated that the borate diffusion in the resin phase was influenced by the physical structure of resins because of the electrostatic interaction between carboxy groups and borate.

**Keywords** [Borate adsorbent, Nucleoside, Amide bond, Chemical adsorption, Electrostatic interaction]

## 1 序論

世界的な人口増加や産業の発展等により水の需要が増加している。国連の報告によると世界人口65億人のうち飲料水など生活用水が得られない人口は11億人となっている<sup>1</sup>。このような背景から近年では生活用水の確保のために海水淡水化に注目が集まっている。海水淡水化には様々な方式があるが、その中でもエネルギーコストが小さく安価でありイオン類の除去が99%可能な逆浸透膜法が主流となっている。しかし、現在

の逆浸透膜法では海水中のホウ素を十分に除去することができない<sup>2</sup>。選択的ホウ酸吸着剤として*N*-メチルグルカミン樹脂が実用化されており、そのホウ酸吸着能は非常に高いことが知られている<sup>3</sup>。しかし、吸着速度が遅いこと、また、強くホウ素と結合するため再利用が困難なことが問題となっている<sup>4</sup>。そのため、従来型とは異なる取り扱いが容易な高ホウ酸選択的吸着剤開発が必要とされている。

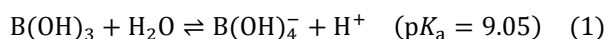
ホウ素は地球上で水圏や岩石圏に広く分布している。自然界においてホウ素は常に酸素や他の元素と結

1 都城工業高等専門学校物質工学科 Department of Chemical Science and Engineering, National Institute of Technology, Miyakonojo College

2 九州大学大学院理学研究院化学部門 Department of Chemistry, Faculty of Sciences, Kyushu University

合しており、様々な形で複雑な化合物として存在している。海水中のホウ素濃度は $4.5 \text{ mg kg}^{-1}$ 、地下水には $0.3\text{--}100 \text{ mg kg}^{-1}$ 存在している<sup>5)</sup>。このホウ素は植物の必須微量元素であるが過剰摂取は有毒となり生育可能濃度範囲も非常に限られているため、灌漑用水または土壌中から過剰なホウ素を取り除くことが重要になっている。また、動物においても細胞壁の形成や骨の新陳代謝に必須であるが、ホウ素の量が必要量よりわずかにでも過剰になると有毒となることが知られている。動物体内に摂取されると特に生殖阻害毒性を示すことが動物実験で実証されている<sup>6)</sup>。そこで、WHOでは飲料水中のホウ素濃度を $2.4 \text{ ppm}$ 以下にするガイドラインを設定している<sup>7)</sup>。日本では、上水におけるホウ素の水質基準を $1.0 \text{ ppm}$ 以下と規定している<sup>8)</sup>。

ホウ素は天然水中では、ほとんどがホウ酸として存在している。ホウ酸は水と反応してホウ酸陰イオンとなる。また、ホウ酸の解離反応は(1)式ようになる。



ここで $\text{B(OH)}_4^-$ は中性のポリオールと反応し、錯体を形成することが知られている。特に、リボースのような隣接する水酸基が互いに *cis*位をとる糖鎖化合物は $\text{B(OH)}_4^-$ と安定な五員環錯体を形成する<sup>9,10)</sup>。 $\text{B(OH)}_4^-$ はポリオールと反応して錯体を形成する際、化学種間で脱水縮合が起こり1:1錯体を形成する。さらに、1:1錯体にポリオールが反応して1:2錯体が形成される

(Fig. 1)。この際に、水酸基の配向が揃っていれば $\text{B(OH)}_4^-$ と速やかに錯形成を行えると考えられるため、リボース環を有する化合物はこの点でもホウ酸吸着に有利になると予想される。しかし、(1)式からわかるようにホウ酸と中性ポリオール間で錯体を形成するにはpHを高くする必要がある。

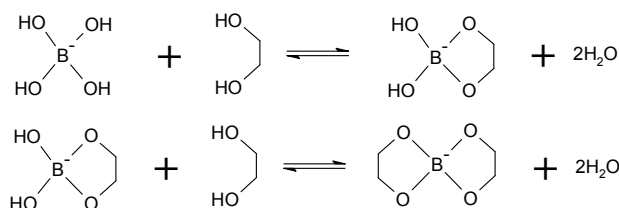


Fig. 1 Formation reactions of (a) 1:1 and (b) 1:2 complexes of borate with ethane-1,2-diol.

現在の逆浸透膜法では海水中のホウ素を十分に除去することができず、WHOが設定した飲料水中のホウ素濃度に対するガイドラインを満たすことが困難である。そこで、本研究では高ホウ素選択的吸着剤の開発を目的とし、ホウ酸と安定な五員環錯体を形成可能な水酸基を有する水溶性ヌクレオシドであるAd (アデノシン) とCy (シチジン) を利用することを試み

た。どちらも互いに *cis*位に配置する隣接した水酸基を有している (Fig. 2)。これらのヌクレオシドとカルボキシ基をもった弱酸性陽イオン交換樹脂間にアミド結合を形成させ固定化することで新規材料とし、ホウ素吸着剤としての可能性を検討した。また、ホウ素吸着剤開発にあたりヌクレオシドを用いたのは、ヌクレオシド中の窒素による緩衝作用にも期待したためである。樹脂相中でヌクレオシドの窒素が周囲の $\text{H}^+$ を受け取ると、樹脂相のpHがバルク溶液より上昇し、その結果、樹脂相で $\text{B(OH)}_4^-$ の分率が増加しより錯体を形成しやすくなると考えた。

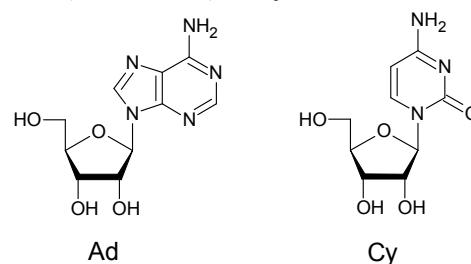


Fig. 2 Chemical structures of adenosine (left) and cytidine (right).

AdとCyは弱酸性陽イオン交換樹脂と直接反応しないため、アミド結合形成試薬として知られているEDC (1-ジメチルアミノプロピル-エチルカルボジイミド塩酸塩) とNHS (*N*-ヒドロキシコハク酸) を用いた。実験方法はMengらの方法を参照した<sup>11)</sup>。まず、EDCとNHSを用いてカルボキシ基を活性化させ、続いてヌクレオシドを反応させて樹脂中にアミド結合を形成させることを試みた (Fig. 3)。

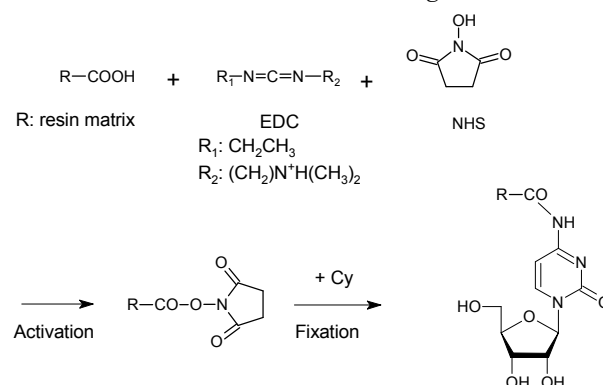


Fig. 3 Scheme of Cy fixation using EDC and NHS.

弱酸性陽イオン交換樹脂として樹脂内のマクロポアの量が異なるポーラス型とハイポーラス型の樹脂を検討した。イオン交換樹脂は物理的構造から大きく3種類に分類され、単純にモノマーを重合させたマイクロポアしかもたない透明なゲル型、ゲル型に物理的に孔(マクロポア)を持たせた多孔性のポーラス型、さらに、ポーラス型より小さな孔をより多く持たせた高多

孔性のハイポラス型が存在する。本研究では、ポーラス型のMAC-3、ハイポラス型のWK100を担体として検討し、物理的構造の違いによる化学種の拡散の違いについても検討を行った。

## 2 実験操作

### 2.1 試薬

H<sup>+</sup>型のアクリル系弱酸性陽イオン交換樹脂MAC-3（室町ケミカル）とメタクリル系弱酸性陽イオン交換樹脂WK100（三菱化学）をそれぞれ20 cm<sup>3</sup>のカラムに詰め、蒸留水で洗浄し、pH 2の塩酸200 cm<sup>3</sup>を流速2 cm<sup>3</sup> min<sup>-1</sup>で通液した。その後、蒸留水で洗浄し、湿潤状態のものを実験に使用した。試薬は試薬特級を使用し、EDC（1-ジメチルアミノプロピル-エチルカルボジイミド塩酸塩）とNHS（*N*-ヒドロキシコハク酸）は和光純薬より、CyとAdについては東京化成より購入した。ホウ素標準溶液はメルク製のものを使用した。その他の試薬については和光純薬より購入した。

### 2.2 ヌクレオシド固定化

実験方法はMengらの方法を参照した<sup>11)</sup>。Cyについては二種類の陽イオン交換樹脂0.1 gにそれぞれpH 5に調整したEDC溶液（0.5 mol dm<sup>-3</sup>）10 cm<sup>3</sup>、NHS溶液（0.25 mol dm<sup>-3</sup>）10 cm<sup>3</sup>を加え、4~6°Cで活性化反応を行った。その際に試薬を加えてからの時間を15、30、60、90、120分とし活性化時間を検討した。次にCy溶液（0.20 mol dm<sup>-3</sup>）25 cm<sup>3</sup>を加え2日間反応させた（pH 5、7、9）。pH 12のNaOH水溶液を加えて固定化反応を終了させ、樹脂をろ取り蒸留水と0.1 mol dm<sup>-3</sup>の塩酸で洗浄し、ろ液と洗液を全て回収し樹脂に固定化されたCyの量を吸光光度法により見積もった。

Adの場合は56 mmol dm<sup>-3</sup>の溶液90 cm<sup>3</sup>を用い、Adの物質量がCyの場合と等しくなるようにした。イオン交換樹脂はハイポラス型のWK100を用い、その他の活性化・固定化条件についてはCyと同様に実験を行った。

### 2.3 ヌクレオシド固定化量の測定

ヌクレオシド固定化後の回収した溶液を150倍に希釈してpH 2の試料溶液を調製した。検量線用試料としてCyでは40–133 μmol dm<sup>-3</sup>、Adでは20–100 μmol dm<sup>-3</sup>の濃度範囲の溶液を調製した（pH 2）。その後、吸光光度計 V-630（日本分光）により各試料溶液および検量線用試料溶液の吸光度を測定した（Cy: 279.5 nm、Ad: 257.5 nm）。測定した吸光度

からイオン交換樹脂1 g中に固定化されたヌクレオシドの量を見積もった。

### 2.4 ホウ酸吸着実験

それぞれの反応時間、pH条件下でCy固定化行った樹脂0.1 gにホウ素濃度10 ppm、全量100 cm<sup>3</sup>となるように溶液を加え、1日間室温で吸着実験を行った（pH 5、7、9）。緩衝剤としてそれぞれCH<sub>3</sub>COONa、NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>、NH<sub>4</sub>Clを加えpHを調整した。吸着実験後、溶液だけを回収しホウ酸濃度をアゾメチンH法<sup>12)</sup>により求め、ホウ酸吸着量を見積もった。その際に、以下の式で示される分配比*D*を算出した。

$$D = \frac{(C_B - [B]_s)V}{[B]_s m} \quad (2)$$

ここで、*C<sub>B</sub>*はホウ酸の初濃度（mol dm<sup>-3</sup>）、*[B]<sub>s</sub>*は吸着後のホウ酸の濃度（mol dm<sup>-3</sup>）、*V*は溶液の体積（cm<sup>3</sup>）、*m*は樹脂の質量（g）である。

### 2.5 陽イオン交換樹脂の交換容量の算出

湿潤状態の弱酸性陽イオン交換樹脂 1 gあたりの交換容量を中和滴定法により算出した。樹脂 0.1 gをビーカーに量り取り、正確に濃度を決定した0.1 mol dm<sup>-3</sup>のNaOH溶液10 cm<sup>3</sup>を加えた。30分間攪拌し樹脂中のH<sup>+</sup>を中和させた後、樹脂を含んだ溶液に対してフェノールフタレインを指示薬として0.05 mol dm<sup>-3</sup>の硫酸標準溶液で滴定した。NaOH溶液の濃度変化から樹脂 1 gあたりのカルボキシ基量（交換容量）を見積もった。その結果、MAC-3で交換容量5.6 mmol g<sup>-1</sup>、WK100で4.4 mmol g<sup>-1</sup>という結果が得られた。

## 3 結果および考察

### 3.1 ヌクレオシドの固定化

イオン交換樹脂へのCyの固定化について検討した。各活性化時間に対してCyの固定化率をTable 1に示す。固定化率についてはCyの固定化量を各イオン交換樹脂の交換容量に対する割合として求めた。MAC-3の場合、pHによる固定化の様子に大きな違いは見られなかったが、pH 5の90分の場合において固定化率がわずかではあるが最も高かった。この結果は参照したMengらの結果と一致しており<sup>11)</sup>、MAC-3については活性化時間90分、pH 5を最適条件として決定した。

WK100においてはpH 7の30分やpH 9の90分において高い固定化率を示した。しかし、どちらのpHにおいても、一度固定化率が減少した後、上昇しており、

また、pH 7の90分以降では固定化率が100%を超える異常値を示した。そのため、活性化時間を長くするとEDCやNHSが変性し、それらがCyを分解するのではないかと考えた。そこで、固定化率が高い値を示したものについてホウ酸吸着実験を行い、固定化がなされているかどうか確認を行った。その結果をTable 2に示す。この結果から、pH 7の90分では明らかにホウ酸吸着能は減少しており、Cyが分解したために見かけ上、高い固定化率を示したことがわかった。この結果から、WK100についてはpH 9の30分を最適条件として決定した。

Table 1 Relationship between activation time (AT) and fixed Cy ratio for MAC-3 and WK100 resins

AT / min	Fixed Cy ratio (%)					
	MAC-3 (porous)			WK100 (highly porous)		
	pH 5	pH 7	pH 9	pH 5	pH 7	pH 9
30	22	36	32	1.1	64	32
60	30	-	36	5.2	36	6.8
90	38	28	34	34	277	75
120	34	22	33	4.3	134	19

Adを用いた固定化実験の場合、固定化率はどの条件でも数%であり固定化はほぼ起きなかった。ヌクレオシドの分子サイズと樹脂のマクロポアの孔径について詳細を確認することは出来なかったが、Adはリボース環にアデニン環という嵩高い側鎖を持っておりCyよりも分子サイズが大きいため (Fig. 2)、分子サイズの違いにより樹脂内への拡散が抑制されたのではないかと考えた。

Table 2 Borate distribution ratio of WK100 resins prepared by different pH and activation time (AT)

pH	AT / min	Fixed Cy ratio (%)	D / cm <sup>3</sup> g <sup>-1</sup>
7	30	64	441
	90	277	50
9	30	32	457
	90	75	419

### 3. 2 ホウ酸吸着実験

Cy固定化の最適条件で調製した吸着剤についてpHを変化させてホウ酸吸着挙動を確かめた。その結果をTable 3に示す。どちらの樹脂でもpHの上昇に伴い分配比Dは増加しており、ホウ酸を吸着できることが示された。これにより樹脂内にCyが固定化されている

ことが確認できた。樹脂の物理構造の違いについては、ハイポーラス型のWK100ではポーラス型に比べて10倍ほど分配比が大きくなっていることが示された。調製した条件では、樹脂構造に関係なくCyは樹脂内のカルボキシ基の約30%に固定化されているため、吸着能の違いは樹脂相へのホウ酸化学種の拡散のしやすさが異なることが考えられる。今回の条件では樹脂中のカルボキシ基の70%は未反応で残っており、それらはpHの上昇と共に酸解離していく。樹脂内にB(OH)<sub>4</sub>が拡散する場合、B(OH)<sub>4</sub>は解離型のカルボキシ基 (-COO<sup>-</sup>) と負電荷同士で静電的な反発を起こすことが予想される。そのため、ミクロポアが多いポーラス型では樹脂内のカルボキシ基とB(OH)<sub>4</sub>の距離が近くなるために反発が大きくなるのに対して、マクロポアが多いハイポーラス型樹脂ではマクロポアの部分でのカルボキシ基とB(OH)<sub>4</sub>の距離はポーラス型と比べて離れることになり樹脂内のB(OH)<sub>4</sub>と解離固定基との静電的な反発は小さくなりB(OH)<sub>4</sub>の拡散が起こりやすくなったのではないかと考えられる。

ハイポーラス型樹脂の分配比のpH依存性を見ると、pH 5においてもpH 7と同程度の吸着を示していることから、Cyによる固相内緩衝作用が起こり樹脂相のpHがバルク溶液とは異なることが示唆された。

Table 3 pH dependence of distribution ratio of different type resins prepared by optimum condition

MAC-3		WK100	
pH	D / cm <sup>3</sup> g <sup>-1</sup>	pH	D / cm <sup>3</sup> g <sup>-1</sup>
4.7	5.8	5.0	485
7.2	21	7.2	438
9.1	57	9.1	525

## 4 結論

新規ホウ素選択的吸着剤の開発を目的として研究を行った。物理構造の異なる弱酸性陽イオン交換樹脂とアミノ基を持つヌクレオシドを使用することでCyを樹脂内に固定することができた。一方、Adでは固定化はほぼ起きなかった。これはヌクレオシドの分子サイズの違いに起因しており、分子サイズの大きなAdは樹脂相に拡散しにくいことが示唆された。

Cyを用いた場合の樹脂相カルボキシ基に対する固定化率は樹脂構造に依存せずそれぞれ30%程度であった。一方、ホウ酸吸着実験においてはポーラス型よりもハイポーラス型構造の場合の方が分配比は10倍程度大きくなり、B(OH)<sub>4</sub>の拡散のしやすさが吸着能の違いに繋がったと考えられた。また、ハイポーラス型樹脂を使用した場合には酸性側でも吸着が起こった

め、樹脂相のCyによる固相内緩衝作用が起こることが示唆された。

官能基を固定化する樹脂相の物理構造を検討することでより吸着剤としての性能を上げられることが示唆される結果となった。

Biomed. Mater. Res. A, 70(1), pp.49-58, 2004  
12) JIS, K0102, 工場排水試験方法, 2013

#### 参考文献

- 1) 向井久和, “グローバルな水問題解決に活躍するナノ構造水処理用分離膜技術”, NanotechJapan Bulletin, 2, pp.1-8, 2009
- 2) N. Hilal, G.J. Kim, C. Somerfield, “Boron removal from saline water: A comprehensive review”, Desalination, 273, pp.23-35, 2011
- 3) K. Yoshimura, Y. Miyazaki, F. Ota, S. Matsumoto, H. Sakashita, “Complexation of boric acid with the *N*-methyl-D-glucamine group in solution and in crosslinked polymer”, J. Chem. Soc., Faraday Trans., 94, pp.683-689, 1998
- 4) M. Badruk, N. Kabay, M. Demircioglu, H. Mordogan, U. Ipekoglu, “Removal of Boron from Wastewater of Geothermal Power Plant by Selective Ion-Exchange Resins. II. Column Sorption-Elution Studies”, Sep. Sci. Technol., 34, pp.2981-2995, 1999
- 5) P. Argust, “Distribution of boron in the environment”, Biol. Trace Elem. Res., 66, pp.131-148, 1998
- 6) F. Xu, H. E. Goldbach, P. H. Brown, R. W. Bell, T. Fujiwara, C. D. Hunt, S. Goldberg, L. Shi, “Boron Functions in Plants and Animals: Recent Advances in Boron Research and Open Questions”, Advances in Plant and Animal Boron Nutrition, pp.3-25, 2007
- 7) Guidelines for Drinking-water Quality, 4th ed., WHO, 2011
- 8) 厚生労働省, 水質基準項目と基準値, 2015
- 9) S. Chapelle and J.F. Verchere, “A <sup>11</sup>b and <sup>13</sup>c nmr determination of the structures of borate complexes of pentoses and related sugars”, Tetrahedron, 44, pp.4469-4482, 1988
- 10) T. Fujimori, “Fundamental study on functional materials for water treatments by kinetics/thermodynamics and molecular orbital calculations”, Kyushu University, Ph. D. thesis, 2010
- 11) F. Meng, G. H. M. Engbers, J. Feijen, “Polyethylene glycol-grafted polystyrene particles”, J.