

(平成7年9月7日受理)

# 可塑化高分子膜におけるクラウンエーテルに媒介された アミノ酸の光学分割輸送

工業技術院 物質工学工業技術研究所 新保外志夫・金森 敏幸・小笠原啓一・山崎 章弘 岩坪 隆・増岡登志夫・山口 智彦

## Crown Ether-Mediated Enantioselective Transport of Amino Acid across Plasticized Polymeric Membranes

Toshio Shinbo, Toshiyuki Kanamori, Keiichi Ogasawara, Akihiro Yamasaki, Takashi Iwatsubo, Toshio Masuoka, and Tomohiko Yamaguchi

National Institute of Materials and Chemical Research, Tsukuba, Ibaraki, 305 Japan

**Abstract**: The enantioselective transport of DL-phenylalanine across a polymeric membrane plasticized with *o*-nitrophenyl octyl ether and containing a chiral crown ether was investigated. The transport behavior was dependent on the type of polymers. Poly (vinyl chloride) gave an excellent membrane keeping both fluxes and optical resolution ratio constant for a long time. A plasticized cellulose triacetate membrane initially showed a high optical resolution ratio, which was decreased rapidly and approached a steady value of about 7. This value was approximately equal to those obtained with poly (vinyl chloride) membranes and supported liquid membranes. On the other hand, a plasticized cellulose nitrate membrane gave a small optical resolution ratio of less than 4 after an initial rapid decrease. The experimental results obtained with membranes of various thicknesses showed that the rate-determining step of the transport was the diffusion in the membranes.

(Received September 7, 1995)

### 1. 緒 言

ある特定の化学種と選択的に複合体を形成する化合物 を膜中に入れたキャリヤー膜は、高い選択性と濃縮輸送 性を有するため、近年の高機能化の流れとともに活発に 研究されている[1-3]。キャリヤー膜は大別すると、固 定キャリヤー膜と移動キャリヤー膜に分けることができ る。固定キャリヤー膜は官能基を有する高分子からなる 固体膜であるため、安定性や耐久性はよいが流束が小さ く、一方、移動キャリヤー膜は通常液膜という形態をと っているため、固体膜より流束は大きいものの、安定性 や耐久性が乏しいという問題がある。杉浦らはこの問題 を解決する一つの方法として, Bloch ら[4]によって提 案された可塑化高分子膜についてキレート剤をキャリヤ ーとする金属イオンの輸送を詳細に検討し、可塑化高分 子膜が分離膜として有望であることを報告した[5-8]。 可塑化高分子膜ではキャリヤーは溶媒に溶けており、か つその溶媒は高分子網目中に束縛されているので、素材 の選び方によっては固体膜の安定性と液膜の大きな流束 の両方を併せ持つキャリヤー膜となることが期待される。 著者らはこれまで、含浸液膜でキラルクラウンエーテ ルをキャリヤーとすればアミノ酸の光学異性体が良好な 分離比で識別輸送されることを見いだし[9]、その系に ついて輸送特性[10]や輸送メカニズム[11]を明らかにし てきた。また、含浸液膜を構成する膜溶媒と支持フィル ムを種々検討することにより、それらを適切に選択すれ ばかなり長期間安定に機能する含浸液膜を作製できるこ とも報告した[12]。しかしながら、含浸液膜は支持フィ ルムの細孔内に界面張力によって支持された液膜である ために、膜両側に許容される圧力差が小さいという欠点 があり、それが膜溶媒の溶出とともに含浸液膜の大きな 問題点となっていた。

そこで今回,耐圧性が優れ上述のような可能性をもつ 可塑化高分子膜について,クラウンエーテルに媒介され たアミノ酸の光学分割輸送系を適用し,その膜が金属イ オンばかりでなくアミノ酸のような大きな有機イオンの 輸送に対しても有効かどうか検討した。即ち,ポリ塩化 ビニル,トリアセチルセルロース,ニトロセルロースの 三種類の高分子について、キラルクラウンエーテルを溶 存する ~ニトロフェニルオクチルエーテルを可塑剤と する可塑化高分子膜を作製し、アミノ酸の光学分割輸送 能を測定した。その結果について光学分割能を指標とし て透過挙動を考察した。

### 2. 実験

### 2.1 試薬及び膜材料

キラルクラウンエーテル、(R)及び(S)-bis(3-phenylnaphtho)-22-crown-6(R)-1及び(S)-1),は文献[13]に 記載された方法で合成した。ポリ塩化ビニルは和光純薬 製、トリアセチルセルロースはEastman Kodak 社製、  $\sigma$ -ニトロフェニルオクチルエーテル (ONPOE)は同仁 化学研究所製のものを使用した。また、ニトロセルロー ス (硝化度:11.2%)はダイセル化学㈱から供与された ものをそのまま使用した。



(R)-bis(3-phenylnaphtho)-22-crown-6((R)-1)

キラルクラウンエーテル含有可塑化高分子膜は,可塑 剤として含浸液膜で非常に優れた性能を示した ONPOE [12]を使用し,それと高分子及びキラルクラウンエーテ ル1を含む溶液をガラス板上にキャスト・風乾すること によって調製した。代表的調製法を以下に示す。

2%ポリ塩化ビニルのテトラヒドロフラン溶液11mL, 10% ONPOEのテトラヒドロフラン溶液2.2 mL, 5× 10<sup>-3</sup>mol dm<sup>-3</sup>クラウンエーテル(R)-1のテトラヒドロフ ラン溶液2.2 mLをガラス製平底シャーレ(直径58.5 mm)上で混合し,溶媒をゆっくりと蒸発させることに よって透明なフィルムを得た。なお,高分子がトリアセ チルセルロースの場合には溶媒としてジクロロメタンを, ニトロセルロースの場合には酢酸エチルを用いた。また, クラウンエーテルの量は, すべての膜で等しく, ONPOEに対して50 mM になるように調整した。

# 2.2 DL-フェニルアラニンの光学分割輸送の測定

ラセミ体のアミノ酸の光学分割輸送は,別の報告で述 べたものと同様の方法で測定した[10]。即ち,作製した 可塑化高分子膜を2つのガラス製半セル(有効膜面積: 約7 cm<sup>2</sup>)の間にはさみ、一方の側の半セル(原液側, 容積:24 mL)には、0.1 M DL-Phe + 0.15 M HClO<sub>4</sub> の溶液を、また他方の側の半セル(透過側,容積: 24mL)には0.1 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>を入れた。このセルを25℃の 恒温水槽中に固定し、両水溶液相をマグネティックスタ ーラーで攪拌した。長期間の連続使用実験の場合には、 膜両側に上記組成の原液と透過液を一定流速で送液し回 収せずに排液した。

フェニルアラニンの輸送速度は、透過側のD-フェニ ルアラニン (D-Phe) 及びL-フェニルアラニン (L-Phe) の濃度を光学異性体分析カラム[14]を取り付けた液体ク ロマトグラフ装置で測定することによって求めた。流束 は、特別に記載しない限り、実験開始後から測定時間ま での間の平均値を使用した。また、光学分割比(a)は、 D-Phe と L-Phe の流束比(J<sup>D</sup>/J<sup>L</sup>) で定義した。

### 3. 結果と考察

#### 3.1 可塑化ポリ塩化ビニル膜

キラルクラウンエーテルを含む ONPOE で可塑化した ボリ塩化ビニル膜で DL-Pheを輸送させたときの結果の 例を図1に示す。図には透過側の D-Phe と L-Phe の濃 度と光学分割比を時間に対してブロットしてある。 D-Phe と L-Phe の濃度は、少しの遅れ時間の後直線的に 増加し、光学分割比は、初期にはゆっくりとした減少が 僅かにみられたものの、すぐに含浸液膜で得られた値 (約8) [10]に落ち着いた。膜中にクラウンエーテルが



Fig. 1 Time courses of concentrations of phenylalanine enantiomers and optical resolution ratio for plasticized poly (vinyl chloride) membrane containing 50 mM (R)-1: Composition of membrane, poly (vinyl chloride): ONPOE = 1: 1.6; membrane thickness, 89  $\mu$  m. ( $\bigcirc$ ), D-Phe in the receiving phase; ( $\bigcirc$ ), L-Phe in the receiving phase; ( $\triangle$ ), concentration ratio of D-Phe to L-Phe in the receiving phase.

Polymer	Polymer : ONPOE (wt.ratio)	Membrane thickness (µm)	$Flux \times 10^{9} (mol \ cm^{-2} \ h^{-1})$		J <sup>D</sup> ∕J <sup>L</sup>
			JD	J <sup>L</sup>	( <i>a</i> )
Poly(vinyl chloride)	1:1	52	10.2	1.55	6.6
	1:1	97	5.37	0.790	6.8
	1:1	243	2.30	0.344	6.7
	1:1.6	89	38.6	5.00	7.7
	1 : 2	73	76.5	10.2	7.5
	1 : 2	152	36.0	4.60	7.8
Cellulose triacetate	1:1.6	31	138	19.0	7.3
	1:1.6	47	99.3	14.1	7.0
	1 :1.6	95	48.6	6.85	7.1
Cellulose nitrate	1 :1.6	96	11.3	3.61	3.1
	1 :1.6	48	16.7	6.00	2.8
	.1 . 3 1	33	134	37 9	3 5

 Table 1
 Fluxes and Optical Resolution Ratios for Plasticized Polymeric Membranes

 Containing 50 mM (R)-1



Fig. 2 Plots of reciprocals of fluxes against membrane thickness: Composition of membrane, poly (vinyl chloride):  $ONPOE = 1: 1, (\bigcirc), D$ -Phe; ( $\bigoplus$ ), L-Phe.

存在しないときには、D-Phe, L-Phe のいずれも全く輸 送されなかった。本膜系で使用した R 体のクラウンエ ーテルは D-Phe とより安定な錯体を形成するので、本 実験の結果は含浸液膜と同様に、安定な錯体を形成する 対掌体の方が優先的に輸送されることを示している。ま た、膜は安定で、数回の再使用(一度使用した膜を繰り 返し使用すること)を行っても性能の劣化は全く観測さ れなかった。

表1に、ポリ塩化ビニルの量と ONPOE の量を変化さ せた時の結果を示す。表中の流束は定常状態に達した後 の値である。表より、ポリ塩化ビニル量を一定にして



Fig. 3 Time courses of concentrations of phenylalanine enantiomers and optical resolution ratio for plasticized cellulose triacetate membrane containing 50 mM (R)-1: Composition of membrane, cellulose triacetate: ONPOE = 1: 1.6; membrane thickness, 56  $\mu$  m. ( $\bigcirc$ ), D-Phe in the receiving phase; ( $\bigcirc$ ). L-Phe in the receiving phase; ( $\triangle$ ), concentration ratio of D-Phe to L-Phe in the receiving phase.

ONPOE 量を増加させると膜厚が増加するにも拘わらず 流束は増加すること、及びボリ塩化ビニルと ONPOE の 量比が同じであれば膜厚が増加するほど流束が減少する こと、が分かる。後者については更に詳しく検討するた めに、ポリ塩化ビニルと ONPOE の量比が1:1の場合 について流束の逆数を膜厚に対してプロットした。その 結果を図2に示す。図から明らかなように、両者はほぼ



Fig. 4 Long-term stability of plasticized cellulose triacetate membrane in continuous flowing system: Composition of membrane, cellulose triacetate: ONPOE = 1: 1.6; membrane thickness,  $82 \ \mu$  m. Flow rate: source phase, 7.8 mL/h; receiving phase, 7.2 mL/h. (O), D-Phe in the receiving phase; ( $\bigoplus$ ), L-Phe in the receiving phase; ( $\triangle$ ), concentration ratio of D-Phe to L-Phe in the receiving phase.



Fig. 5 Time courses of concentrations of phenylalanine enantiomers and optical resolution ratio for plasticized cellulose triacetate membrane containing 50 mM (S)-1: Composition of membrane, cellulose triacetate: ONPOE = 1: 1.6; membrane thickness, 54  $\mu$  m. (O), D-Phe in the receiving phase; ( $\oplus$ ), L-Phe in the receiving phase; ( $\triangle$ ), concentration ratio of L-Phe to D-Phe in the receiving phase.



Fig. 6 Time courses of concentrations of phenylalanine enantiomers and optical resolution ratio for plasticized cellulose nitrate membrane containing 50 mM (*R*)·1: Composition of membrane, cellulose nitrate: ONPOE = 1: 1.6; membrane thickness, 101  $\mu$  m. (O), D-Phe in the receiving phase; ( $\bullet$ ), L-Phe in the receiving phase; ( $\Delta$ ), concentration ratio of D-Phe to L-Phe in the receiving phase.

・原点を通る直線関係を示した。これは、前報(15)で述べたように、この可塑化高分子膜でも含浸液膜と同様に膜中でのフェニルアラニンとクラウンエーテルの錯体の拡散が輸送の律速段階になっていることを意味する。

### 3.2 可塑化トリアセチルセルロース膜

図3に、トリアセチルセルロース膜を用いた場合の透 過側のD-及びL-Pheの濃度と光学分割比の時間変化の 代表例を示す。トリアセチルセルロースの場合はポリ塩 化ビニルの場合と異なり、光学分割比は初期には非常に 大きな値を示し、その後急激に減少し一定値に近づいた。 図4に、膜の両側の溶液を連続的に送液して、透過側の 濃度及び光学分割比の経時変化を測定した結果を示す。 実験を開始した日以外は透過側の対掌体それぞれの濃度 及び光学分割比は、約1ケ月間殆ど変化せず一定であっ た。従って、図3と図4から、可塑化トリアセチルセル ロース膜は、輸送実験開始直後は輸送性能が安定しない が、それ以降は定常状態に達することがわかる。

この初期の異常な挙動は、①ボリ塩化ビニルでは観測 されていないこと、及び②S体のクラウンエーテル ((S)-1)を使用した膜では、図5に示すようにL-Phe が優先的に輸送され、選択性が逆になること以外は全く 同じであること、から、トリアセチルセルロースの特性 に由来するもののそのキラリティには関係しない現象で ある。またこの現象は一度使用した膜では認められない ので、未使用膜の特徴でもある。現在のところこの現象 の原因は明らかではないが、クラウンエーテルの抽出能 (光学分割能) [13] は近似的には含浸液膜での光学分割 比に等しいこと,及び図3と図5で見られるように優先 的に輸送される対掌体では遅れ時間が短いことなどを考 慮すると,トリアセチルセルロースでは製膜直後は安定 な錯体を形成する対掌体がクラウンエーテルの識別能を 越えて輸送される何らかのミクロ構造が形成されている と考えられる。この構造は水と接すると急激に破壊され, 通常の拡散が支配する構造に変化するのであろう。これ がどのようなものかは今後の研究を待たなければならな いが,クラウンエーテルの錯体形成能を遙かに越えた選 択性が過渡状態とはいえ観察されたのは興味深い。

3.3 可塑化ニトロセルロース膜

ニトロセルロース膜における輸送能の経時変化を図6 に示す。光学分割比は実験開始直後に急激に4付近にま で減少し、その後、ゆっくりと減少した。光学分割比の 急激な減少がみられたのはトリアセチルセルロースの場 合と同じであるが、その値は含浸液膜での値8を大きく 下回っている。ONPOE とその量比を変えたときの結果 をいくつか表1に示してあるが、いずれの場合も光学分 割比は非常に小さい。ただし、このニトロセルロースの 場合はポリ塩化ビニルやトリアセチルセルロースの場合 と異なり、一日後も定常状態に達しなかったので24時間 の平均の値をのせてある。この結果はニトロセルロース 膜ではクラウンエーテルを介さないアミノ酸の透過が起 こっていることを示唆する。本研究で用いたニトロセル ロースは、硝化度が11.2%のもので、グルコース1単位 当たり1個の水酸基が未修飾のまま残されているため、 前項で述べたトリアセチルセルロースよりも親水的であ ると考えられる。従って、膜が水相に接することにより ニトロセルロースが水和し、これがアミノ酸のクラウン エーテルを介さない輸送、即ち漏れを引き起こしている と考えられる。

### 文 献

- R. D. Noble and J. D. Way, Eds., "Liquid Membranes: Theory and Applications", ACS Symp. Ser., 347, Am. Chem. Soc.(1987).
- 日本化学会編,「化学総説No.45 機能性有機薄膜」,
   学会出版センター (1984).
- 日本膜学会編,「膜学実験シリーズ第(3)巻 生体機 能類似膜編」,共立出版.
- R. Bloch, A. Finelstein, O. Kedem, and D. Vofski, Ind. Eng. Chem., Process Des. Dev., 6, 231 (1967).
- 5. M. Sugiura, J. Colloid Interface Sci., 81, 385 (1981).
- M. Sugiura, M. Kikkawa, and S. Urita, Sep. Sci. Technol., 22, 2263 (1987).
- M. Sugiura, M. Kikkawa, and S. Urita, J. Membr. Sci., 42, 47 (1989).
- 8. M. Sugiura, Sep. Sci. Technol., 28, 1453 (1993).
- T. Yamaguchi, K. Nishimura, T. Shinbo, and M. Sugiura, Chem. Lett., 1985, 1549.
- T. Shinbo, T. Yamaguchi, K. Sakaki, H. Yanagishita, D. Kitamoto, and M. Sugiura, *Chem. Express.*, 7, 781 (1992).
- T. Yamaguchi, K. Nishimura, T. Shinbo, and M. Sugiura, *Bioelectrochem. Bioenerg.*, 20, 109 (1988).
- T. Shinbo, T. Yamaguchi, H. Yanagishita, K. Sakaki, D. Kitamoto, and M. Sugiura, J. Membr. Sci., 84, 241 (1993).
- D. S. Lingenfelter, R. C. Helgeson, and D. J. Cram, J. Org. Chem., 46, 393 (1981).
- T. Shinbo, T. Yamaguchi, K. Nishimura, and M. Sugiura, J.Choromatogr., 405, 145 (1987).
- 山口智彦,杉浦正昭,島倉佳江,加茂直樹,小畠陽
   之助,高分子論文集,43,787 (1986).