

機関番号：13901

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2009～2010

課題番号：21710078

研究課題名(和文) 酵素様活性を示す新規有機ホスト無機複合体による有害物質の高効率除去と無害化

研究課題名(英文) Highly efficient removal and degradation of toxic compounds with novel host molecule-metal ion complexes having enzyme-like activities

研究代表者：

松宮 弘明 (MATSUMIYA HIROAKI)

名古屋大学・工学研究科・助教

研究者番号：10362287

研究成果の概要(和文)：本研究では、酵素様活性を示す新規有機ホスト無機複合体を調製し、これに有害物質を濃縮した後そのまま分解・無害化する高効率な環境浄化システムの構築を目指した。有害物質の例として有機リン系農薬(フェントロチオン、ジクロルボス、パラオキソン)およびカーバメイト系農薬(カルバリル、プロポキスル)を取り上げ、水中からの除去と分解反応による神経毒性の低減を検討した。その結果、浄化材料を設計し実用的システムを構築する上で今後の指針となる有用な知見が得られた。

研究成果の概要(英文)：The present study was conducted with a view to developing highly efficient environmental purification systems by which the removal and subsequent detoxification of hazardous chemicals can be achieved with novel host molecule-metal ion complexes having enzyme-like activities. Taking organophosphate (e.g., fenitrothion, dichlorvos, and paraoxon) and carbamate (e.g., carbaryl and propoxur) pesticides as examples, their removal from water, followed by the hydrolytic degradation to reduce their neurotoxicity, was examined. The obtained results provide guidelines for the further design and development of environmental purification materials and systems for practical use.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	2,200,000	660,000	2,860,000
2010年度	1,300,000	390,000	1,690,000
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：分離化学

科研費の分科・細目：環境学、環境技術・環境材料

キーワード：チアカリックスアレーン、セリウム、界面活性剤、アドミセル、有機リン系農薬、カーバメイト系農薬、エステル加水分解

## 1. 研究開始当初の背景

(1) 近年のバイオ技術の発展に伴い、天然の酵素や微生物を環境浄化に利用する試みが数多く行われている。しかし、一般に生物分解は操作条件に敏感であり、処理時間も長い。また、微生物の場合はそれ自身が捕集と分解の両方を行うが、酵素の場合は物質捕集能が殆ど無いため、有害物質との接触効率が低いなどの問題点がある。酵素を固相吸着剤

などの捕集媒体に固定化し、そこに有害物質を捕捉して両者の接触効率を高めるなどのアプローチもあるが、酵素が固定化処理の際に失活してしまうことも多く、その効果はあまり高くない。本研究では、これらの諸問題をバイオ技術とは別のアプローチで解決することを考えた。

(2) 物理化学の分野では、水中の界面活性

剤分子が自己組織化膜を形成しながら固-液界面に吸着して“アドミセル”と呼ばれる分子集合体を形成することが1960年代に、そしてその界面活性剤分子の疎水鎖から構成されるマイクロ疎水場に疎水性化合物が取り込まれることが1980年代に見出されていた。通常の界面活性剤ミセルは水中に均一に分散したナノ粒子であるため、水からの分離回収は容易ではない。一方、アドミセルは固相担体上に固定化されているため、その物質捕集能を利用することは容易である。研究代表者は、微量計測工学の観点から、このアドミセルの特性を分離濃縮技術に利用することを検討してきた。

(3) 一方、研究代表者はフェノールが硫黄で環状に架橋された構造を有する新しいタイプのホスト分子チアカリックスアレーンを金属イオンの分離分析試薬として研究してきた。例えば、チアカリックスアレーンを固相担体に固定化すると、架橋硫黄の強力な配位能により重金属イオンを濃縮できる。このチアカリックスアレーンの配位サイトは複核金属錯体を形成するのに適した構造を有しており、1 nm 以下の非常に近接した位置に複数の金属イオンを配置できる。このような配位様式が天然の金属酵素の活性サイトに類似していることに着目し、チアカリックスアレーン金属錯体の触媒能を検討したところ、セリウム(IV)二核錯体がリン酸エステル分解酵素フォスファターゼ様活性を示すことを見出した。

(4) そこで研究代表者は、以上の研究経緯から、界面活性剤・固体粒子・チアカリックスアレーン・金属イオンを複合化することにより、物質捕集能と分解能を併せ持った環境浄化材料を設計できるのではないかとこの着想に至った。

## 2. 研究の目的

本研究では、バイオ技術を利用した環境浄化方法が抱える諸問題を解決し、些細な条件の変動に左右されず迅速に有害物質を処理できる方法の開発を目的とした。有害物質に対して捕集媒体となるアドミセルに、人工分解酵素として働くチアカリックスアレーン金属錯体を組み込み、水中の有害物質を捕捉した後そのまま分解・無害化する高効率な環境浄化方法の構築を目指した。

## 3. 研究の方法

(1) アドミセルはカチオン界面活性剤（塩化ヘキサデシルトリメチルアンモニウム）と多孔質シリカゲルから調製した。シリカゲル

は弱酸性～アルカリ性の幅広い pH 範囲で表面が負に帯電するため（等電点：約 pH 2）、環境水の処理で想定される pH 範囲でカチオン界面活性剤分子はその表面に強く吸着し、安定なアドミセルを形成する。アドミセルは、数十  $\mu\text{m}$  径のシリカゲル粒子をカチオン界面活性剤水溶液に添加して穏やかにかき混ぜることにより形成させたが、この溶液にセリウム(IV)-チアカリックスアレーンテトラスルホン酸錯体も併せて添加することにより、チアカリックスアレーン錯体含有アドミセルを調製した。

(2) 有害物質の例として有機リン系農薬（フェントロチオン、ジクロロボス、パラオキソン）およびカーバメイト系農薬（カルバリル、プロポキスル）を取り上げ、アドミセルへの捕集挙動を検討した。対象農薬を含む試料水にアドミセルを添加し、穏やかにかき混ぜた後、水中に残存する対象農薬を測定した。初期濃度からの減少率から、アドミセルへの捕集挙動を評価した。また、アドミセルを充填したカラムに試料水を通して対象農薬を捕集する方法も検討し、捕集挙動を評価した。

(3) 対象農薬を捕集したアドミセルを湿潤状態で放置した後、有機溶媒を用いて溶出し、溶出成分を分析して分解反応を追跡した。一方、アドミセル中ではなく、通常のみセル溶液中や純水中にセリウム(IV)-チアカリックスアレーン錯体を含有させた場合の分解反応についても、比較のため追跡した。

## 4. 研究成果

(1) シリカゲルの空孔径が大きいと物質拡散が速やかに行われ、物質の捕集に関して速度の面では有利に働くが、その反面、表面積が小さくなり、界面活性剤の吸着量（アドミセルの生成量）が減少するため、物質の捕集容量に関しては不利になる。そこで空孔サイズが異なる2種類のシリカゲルについて検討を行った。

空孔サイズが 5.5~7.5 nm（公称）のシリカゲルでは界面活性剤の飽和吸着量は 1.8 mmol/g であったが、空孔サイズが 15 nm（公称）のシリカゲルでも飽和吸着量は 1.3 mmol/g であり、有害物質を捕集する、またチアカリックスアレーン錯体を担持するには十分な容量のアドミセルを調製することができた。なお、セリウム(IV)-チアカリックスアレーン錯体の担持可能な量は 100  $\mu\text{mol}$  以上であった。錯体のスルホ基と界面活性剤のアンモニウム基が会合し、疎水的なイオン対を形成してアドミセルに捕捉されていると考えられる。

(2) アドミセルには有機リン系農薬およびカーバメイト系農薬が捕集されたが完全ではなく、最も捕集率が良好であったフェニトロチオンでも 10%が試料水に残存した。しかし、アドミセルを試料水に分散させるのではなく、カラムに充填して捕集を行ったところ、有機リン系農薬およびカーバメイト系農薬を完全に捕集することができた。特にフェニトロチオンの捕集は良好であり、アドミセル充填層の 200 倍に相当する体積の試料水を通して、漏出するフェニトロチオンは検出されなかった。なお、有害金属イオンも疎水性錯体に変換すればアドミセルに完全に捕集することができ、起泡分離との組み合わせにより、環境水分析における前段分離濃縮法にも応用できた。

(3) 有機リン系農薬やカーバメイト系農薬は、そのエステル部位がコリンエステラーゼの活性部位に結合し、神経伝達物質であるアセチルコリンの加水分解を阻害して正常な刺激応答を困難にしている。従って、エステル部位を分解すると有機リン系農薬やカーバメイト系農薬の神経毒性は著しく低減される。よって、これらの農薬の加水分解反応を検討した。

水中 (pH 7) における有機リン系農薬およびカーバメイト系農薬の半減期 (40°C) はフェニトロチオンで 220 時間、ジクロロボスで 55 時間、パラオキソンで 560 時間、カルバリルで 72 時間、プロポキスルで 210 時間であった。一方、ここにセリウム(IV)-チアカリックスアレーン錯体を添加すると加水分解が促進され、特にジクロロボスでは半減期が 1/12 の 4.5 時間 (40°C) にまで減少した。セリウム(IV)は Lewis 酸性が高く、基質である有機リン系農薬やカーバメイト系農薬のエステル部位に作用して電子を吸引し、求核攻撃を受け易くすると同時に、配位水のプロトン解離を促して求核剤となる水酸化物イオンを提供する、いわゆる Lewis 酸触媒として機能していると考えられる。なお、有機リン系農薬のモデル化合物である *p*-ニトロフェニルリン酸を用いた分解実験では、ミセル溶液中で更に 3 倍の反応加速がみられ、イムノアッセイにおける発色反応の増感にも応用できた。

アドミセルにセリウム(IV)-チアカリックスアレーン錯体を担持した場合には、アドミセルに濃縮された有機リン系農薬やカーバメイト系農薬は更に速やかに加水分解され、フェニトロチオンを除き 2 時間以内に完全に反応が完結した (40°C)。なお、フェニトロチオンの分解に要した時間は 24 時間であったが (40°C)、これでも純水中に比べて約 25 倍の反応加速である。一方、アドミセルへのチアカリックスアレーン錯体の担持量を増

やしても加水分解速度の増加幅は小さく、アドミセルのみでも加水分解が促進されることが分った。即ち、チアカリックスアレーン錯体無くとも、有機リン系農薬やカーバメイト系農薬の捕集と分解を行う浄化システムを設計することは可能だが、より迅速に分解反応を行うにはチアカリックスアレーン錯体の触媒能の向上が鍵となり、今後の課題である。

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 2 件)

- ① H. Matsumiya, H. Ishima, H. Nakamura, M. Hiraide, “Catalytic degradation of organophosphates and carbamates with cerium(IV)-thiacalix[4]arene complexes”, *Proceedings of International Conference on Environment 2010*, 査読有, CD-ROM, 2010.
- ② H. Matsumiya, H. Nakamura, M. Hiraide, “Phosphoester hydrolysis by cerium(IV)-thiacalix[4]arene complexes and its application to immunoassay”, *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 査読有, Vol. 394, No. 5, 2009, pp. 1471-1476.

[学会発表] (計 7 件)

- ① H. Matsumiya, H. Ishima, H. Nakamura, M. Hiraide, “Catalytic degradation of organophosphates and carbamates with cerium(IV)-thiacalix[4]arene complexes”, *International Conference on Environment 2010*, 2010 年 12 月 13 日-15 日, Park Royal Hotel (Penang, Malaysia).
- ② 石間早翔, 松宮弘明, 平出正孝, “アドミセルを用いる水中フェニトロチオンの捕集と触媒的加水分解”, 第 29 回溶媒抽出討論会, 2010 年 11 月 26 日-27 日, 広島大学東広島キャンパス (広島県東広島市).
- ③ 福島浩之, 永井真二, 松宮弘明, 平出正孝, “界面活性剤によるチアカリックスアレーン金属錯体の触媒能向上とイムノアッセイの高感度化”, 第 29 回溶媒抽出討論会, 2010 年 11 月 26 日-27 日, 広島大学東広島キャンパス (広島県東広島市).
- ④ M. Hiraide, T. Saitoh, H. Matsumiya, “Extraction of trace constituents with hydrophobic aggregates for water analysis”, *The 5th International Conference on Ion Exchange*, 2010 年 7 月 18 日-21 日, The University of Melbourne (Melbourne, Australia).
- ⑤ H. Matsumiya, Y. Yatsuya, K. Kitakata, M.

Hiraide, "Collection of trace metals with admicelles and the subsequent flotation for environmental water analysis", The 3rd Asian Conference on Colloids and Interface Science, 2009年10月11-14日, International Convention Center Jeju (Seogwipo, Korea).

- ⑥ 松宮弘明, 永井真二, 平出正孝, "カチオン界面活性剤を増感剤とするチアカリックスアレーン錯体によるイムノアッセイ", 日本分析化学会第58年会, 2009年9月24日-26日, 北海道大学高等教育機能開発総合センター (北海道札幌市).
- ⑦ 石間早翔, 松宮弘明, 平出正孝, "アドミセルおよびチアカリックスアレーン金属錯体を用いる農薬成分の捕集と分解", 第70回分析化学討論会, 2009年5月16日-17日, 和歌山大学栄谷キャンパス (和歌山県和歌山市).

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

松宮 弘明 (MATSUMIYA HIROAKI)  
名古屋大学・大学院工学研究科・助教  
研究者番号: 10362287

(2) 研究分担者 なし

(3) 連携研究者 なし