

平成 30 年 6 月 27 日現在

機関番号：24402

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2017

課題番号：16K16216

研究課題名(和文)イオン交換樹脂を用いたイオン性有機汚染物質の吸着性の評価

研究課題名(英文)Evaluating sorption properties of ionic organic contaminants using ion exchange resins

研究代表者

遠藤 智司(Endo, Satoshi)

大阪市立大学・都市研究プラザ・特任准教授(テニュアトラック)

研究者番号：30748934

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：化学物質の環境及び生物影響評価を行うには化学物質の環境中・生体中における分配・吸着挙動を理解する必要がある。本研究ではイオン交換樹脂をイオン性有機汚染物質の分配・吸着挙動解明のためのモデル素材とみなし、バッチ及びカラム実験により多数のイオン性物質についてその吸着係数を測定した。得られたイオン交換樹脂への吸着係数は環境中・生体中における吸着係数と高い相関を示す場合もあり、後者の予測に用いる可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：Successful environmental risk assessments require a profound understanding of the partitioning and sorption behavior of chemicals in the environment and organisms. This study considered ion exchange resins (IERS) as possible model sorbents to investigate the sorption behavior of ionic organic contaminants. Sorption coefficients of IERS for a large number of ionic chemicals were measured by batch and column experiments and were compared to environmentally and biologically relevant sorption coefficients. The measured IEP sorption coefficients correlate well with environmental and biological sorption coefficients in some cases, suggesting that the former can be used for predictions of the latter.

研究分野：環境化学

キーワード：イオン性有機汚染物質 イオン交換 吸着等温線 土壌吸着 環境動態 吸着係数 タンパク質結合

### 1. 研究開始当初の背景

化学物質の環境及び生物影響評価を行うには、化学物質の環境中・生体中における分配・吸着挙動をよく理解する必要がある。分配・吸着の程度は、分配係数・吸着係数  $K$  により定量的に表される。特に水から土壌、底泥、懸濁粒子、生物組織への分配・吸着は物質のフェート（運命）、生物蓄積、毒性に影響を及ぼす重要なプロセスであり、それぞれ対応する  $K$  値を正確に把握することが影響評価において重要である。

これまでの研究により、中性有機化学物質については多くの場合、環境・生体成分（有機物等）/水間の  $K$  値はオクタノール/水分配係数 ( $K_{ow}$ ) と対数相関の関係にあることがわかっている。このことから日本の化審法、EU の REACH 規制、ストックホルム条約を含む国内外の数々の化学物質規制において、 $K_{ow}$  はハザード評価・リスク評価の重要な指標とみなされている。現在、 $K_{ow}$  は豊富なデータベースや推定法が存在し、あらゆる非水相/水間の  $K$  値と比較されるなど、中性有機化学物質におけるリファレンス（比較対象の基準）として確立されている。

一方、水環境中で主としてイオンとして存在するイオン性有機化学物質の分配・吸着挙動に関しては、中性物質の  $K_{ow}$  当たるといえるような指標は確立されていない。イオン性有機化学物質は多くの医薬品、界面活性剤、農薬、分解・代謝産物など環境中で検出される様々な物質を含む。簡便のため、リスク評価においてイオン種は常に水相に留まり固体相に分配・吸着しないと仮定することがある（EU Biocidal Product Regulation 等）が、この仮定は正しくない。イオン種も土壌有機物などに強く吸着することがあることは以前より実験的に示されている。

イオン性物質の分配・吸着メカニズムは中性物質よりはるかに複雑である。中性有機化学物質のようないわゆる「疎水性分配」ではなく、イオン交換、表面（界面）吸着、配位子交換、イオン対分配などのメカニズムで分配・吸着していると考えられている。その中で、イオン交換が土壌有機物や粘土鉱物への吸着、ある種の血清タンパクへの結合などの主要メカニズムであることが示唆されており、汚染物質のリスク評価をする上で特に重要な吸着メカニズムであるといえる。

### 2. 研究の目的

本研究では比較的分子構造が単純なポリマーであるイオン交換樹脂をイオン交換吸着のリファレンス素材の候補とみなし、そのイオン性有機化合物に対する吸着性を詳細に調べ、イオン交換メカニズムに関するリファレンスシステムを確立し、環境・生体成分/水間の  $K$  値予測法を開発することを目的とした。

### 3. 研究の方法

本研究では、(1)まず様々なイオン交換樹脂について、モデルイオン性物質を用いて吸着平衡時間、吸着等温線等を測定し、吸着性の概要を評価した。(2)次に(1)の結果を元に選定した陰イオン交換樹脂について、21種類の陰イオン性化学物質を用いて  $K$  のデータセットを構築した。(3)さらにイオン交換樹脂吸着のデータセットを効率よく拡充するため、イオン交換クロマトグラフィーカラムの保持時間を測定した。(4)最後に、土壌有機物、粘土鉱物、タンパク質への吸着係数データを、本研究のデータと比較した。以下、各項目について具体的な方法を示す。

#### (1) イオン交換樹脂の吸着性評価

(2)で用いるイオン交換樹脂を絞り込むため、4種類の陰イオン交換樹脂（芳香族・強塩基性、芳香族・弱塩基性、脂肪族・強塩基性、脂肪族・弱塩基性）と2種類の陽イオン交換樹脂（脂肪族・強酸性、脂肪族弱酸性）について、吸着平衡到達時間、吸着等温線、競合無機イオンによる吸着の抑制の程度について検討した。(2)で用いるには、同荷電のイオン同士の競合吸着が見られること（イオン交換が起きていること）、測定に十分な強さの吸着力があること、平衡到達時間が比較的短いこと、吸着等温線が直線に近いこと、が条件となる。モデルイオン性物質には、ナフタレンの置換体である陰イオン性有機化学物質2種（スルホン酸及びカルボン酸）と陽イオン性有機化学物質2種（1級アミン、2級アミン）を用いた。

吸着性評価のためバッチ吸着実験を行った。イオン交換樹脂はメタノール及び純水で洗浄し、乾燥させた。ガラスバイアルに樹脂を量り、緩衝溶液を加え、モデル物質の水溶液を添加した。振とう後、濾過し濾液の物質濃度を分光蛍光光度計によって測定した。溶液中の測定濃度と初期濃度の差から樹脂中の濃度を算出した。陰イオン性物質の吸着実験では 10 mM Tris 緩衝溶液 (pH 7.5, 100 mM Cl) を、陽イオン性物質の吸着実験では 2 mM リン酸緩衝溶液 (pH 6.5, Na<sup>+</sup> 100 mM) を吸着平衡到達時間、吸着等温線測定の実験に用いた。競合イオンの影響を検討する実験では Cl 濃度を 20、100、500 mM に調製した。

#### (2) 陰イオン交換樹脂への吸着係数データセットの構築

2種類の陰イオン交換樹脂（脂肪族・強塩基性、脂肪族・弱塩基性）について、21種類の陰イオン性有機化合物を用いて吸着等温線を測定した。実験方法は(1)と同様である。10 mM Tris 緩衝溶液 (pH 7.5, 100 mM Cl) を用い、平衡時間は物質の  $K$  値に応じ、2時間から4日とした ( $K$  が高いほど平衡到達時間が長い)。

### (3) イオン交換クロマトグラフィー保持係数の測定

本研究課題遂行の過程において、バッチ実験のみでは研究期間内に大きなデータセットを構築することが難しいことが見込まれたため、イオン交換クロマトグラフィーを用いたデータ収集を行うことにした。イオン交換クロマトグラフィーの保持時間から計算される保持係数 $k'$ はカラム内のイオン交換樹脂/水吸着係数 $K$ と比例関係にあることから、 $k'$ 値も $K$ 値と同様にイオン交換メカニズムの解明や環境・生体成分/水間の $K$ 値予測法の開発に資すると考えられる。

イオン交換カラムは市販の HPLC 用分析カラム 3 種類(後述)を用いた。溶離液は水 100% (有機溶媒なし) とし、pH は緩衝剤により調整した、競合イオンには  $\text{Na}^+$ 、 $\text{K}^+$ 、 $\text{Cl}^-$  のいずれかを用いた。トレーサー物質(チオ尿素)を注入することで死時間を測定した。様々なイオン性物質の保持時間を測定し、死時間を用いて保持係数( $k'$ )に換算した。それぞれのカラムにおいて pH、温度、競合イオン濃度、注入量などの実験条件は一定とした。

### (4) 環境・生体成分/水分係数との比較

環境及び生体中で重要な吸着・分配係数として、土壌有機炭素/水( $K_{oc}$ )、粘土鉱物/水( $K_{CM/w}$ )、血清アルブミン/水( $K_{BSA/w}$ )、筋タンパク質/水( $K_{MP/w}$ )分配係数をこれまでの研究[1-4]から収集し、(2)、(3)で測定した $K$ 値及び $k'$ 値と比較した。また各イオン性有機物質の中性種の $K_{ow}$ の値も収集し、環境・生体成分/水分係数と比較した。中性種の $K_{ow}$ については USEPA の提供する EPI Suite 内のデータベースを参照した (<https://www.epa.gov/tsc-screening-tools/epi-suite-estimation-program-interface>)。また EPI Suite の KOWWIN による $K_{ow}$ の推定値も用いて比較を行った。

## 4. 研究成果

### (1) イオン交換樹脂の吸着性評価

モデル物質を使った吸着実験から、以下のことがわかった。

- ① 芳香族系(スチレン・ジビニルベンゼンベース)の樹脂は脂肪族系(メタクリレートベース)の樹脂よりもはるかに吸着が強く、長い吸着平衡到達時間を要し、吸着等温線が非線形的であった。
- ② 予想に反し、樹脂や吸着物質のイオン性官能基の種類が吸着係数に与える影響は小さかった。
- ③ 吸着平衡到達時間や吸着等温線においてもイオン交換樹脂の骨格構造の影響が強く、官能基の影響は小さかった。
- ④ 吸着等温線はいずれの場合もフロイントリッヒ式によくあてはまった。
- ⑤ 競合無機イオン濃度の影響は樹脂の

官能基の種類に依存していた。

上述の①の理由から、(2)の実験には効率的なデータ収集が可能な脂肪族メタクリレート系のイオン交換樹脂を採用することとした。

### (2) 陰イオン交換樹脂への吸着係数データセットの構築

メタクリレートベースの強塩基性及び強弱塩基性陰イオン交換樹脂を用い、21 種類の陰イオン性有機物質の吸着等温線を測定した。対象とした物質はカルボン酸、スルホン酸、フェノール、トリケトン、4-OH クマリン構造など多種類の陰イオン性官能基をカバーしている。測定結果はすべてフロイントリッヒ式とよく一致した。図 1 に測定結果の例を示す。二つの樹脂の間の違いは小さかった。フロイントリッヒ係数  $K_{fr}$  [(mg/kg)/(mg/L)<sup>n</sup>] は 1.65–4.63、フロイントリッヒ指数は 0.63–1.01 であった。物質によっては吸着等温線が非線形であったため、(4)の比較にはフロイントリッヒ係数を用いた。

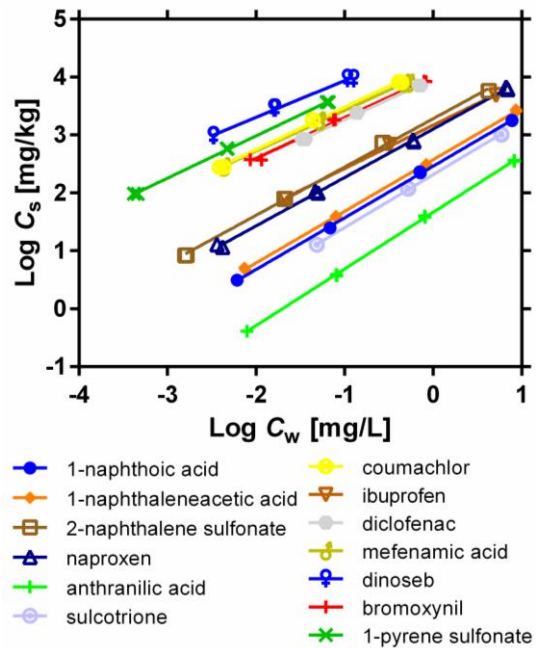


図 1 メタクリレートベースの強塩基性陰イオン交換樹脂における吸着等温線(抜粋)

### (3) イオン交換クロマトグラフィー保持係数の測定

強酸性陽イオン交換カラム(SCX)において 61 種類の陽イオン性物質、弱酸性陽イオン交換カラム(WCX)において 24 種類の陽イオン性物質、弱塩基性陰イオン交換カラム(WAX)において 66 種類の陰イオン性物質の $k'$ を測定した。対数値( $\log k'$ )の範囲は順に、-0.02–2.25、-0.15–1.62、0.01–2.47 であった。バッチ実験よりも効率よく多くのデータを得ることができた。

### (4) 環境・生体成分/水分係数との比較

まず、メタクリレート系の強塩基性及び弱塩基性陰イオン交換樹脂の  $K_{fr}$  ((2)の結果)

を、筋タンパク質/水( $K_{MP/w}$ )、血清アルブミン/水( $K_{BSA/w}$ )、土壌有機炭素/水( $K_{oc}$ )分配係数と比較した。対数相関の  $R^2$  を表 1 に示す。どちらの樹脂における  $K_{fr}$  も  $K_{MP/w}$  と高い相関を示した。特に弱塩基性陰イオン交換樹脂は  $R^2 = 0.95$  と非常に高い相関を示した。イオン性有機汚染物質の吸着係数に関して、2 つ全く異なる材質がこれほど高い相関を示した例は著者の知る限り過去に報告がない。一方、 $K_{fr}$  と  $K_{BSA/w}$  の相関は弱かった。血清アルブミンの結合は物質の立体三次元構造が影響しており、それが相関が高くない一因であると考えられる。

表 1 陰イオン交換樹脂のフロイントリッヒ係数と各分配定数の対数相関 (値は  $R^2$ 、括弧内はデータ数)

	$K_{MP/w}$	$K_{BSA/w}$	$K_{oc}$
$K_{fr}$ (強塩基性)	0.87 (17)	0.36 (15)	0.67 (7)
$K_{fr}$ (弱塩基性)	0.95 (17)	0.24 (15)	0.66 (7)

表 2 に WAX の保持係数  $k'$  と環境・生体成分/水分分配係数 ( $K_{MP/w}$ 、 $K_{BSA/w}$ 、 $K_{oc}$ ) の対数相関を示す。表 2 には後者と  $K_{ow}$  の対数相関の結果も示している。同様に、表 3 に 2 つの陽イオン交換カラム (SCX, WCX) の結果を示す。陰イオン性物質では  $\log k'$  (WAX) と  $\log K_{oc}$ 、 $\log K_{BSA/w}$ 、 $\log K_{MP/w}$  の間に比較的良好な相関が見られた ( $R^2 = 0.5-0.6$ )。陽イオン性物質では  $\log k'$  (SCX) と  $\log K_{CM/w}$  の間に比較的良好な相関が見られた。ほぼすべての場合において、 $k'$  との相関のほうが  $K_{ow}$  との相関よりもよかった。 $K_{ow}$  が中性種の吸着性を反映しているのに対し、 $k'$  はイオン種の吸着性を反映していることから、これは妥当な結果である。 $K_{ow}$  の実験値が  $K_{MP/w}$ 、 $K_{BSA/w}$ 、 $K_{CM/w}$  と比較的良好な相関を示しているが、これはデータ数が少ないことに留意する必要がある。 $K_{ow}$  の実験値が存在しない物質が多くあり、特に強酸性・強塩基性のスルホン酸類、4 級アンモニウム類に由来するイオン性物質は水中で常にイオン種として存在しているため、中性種の  $K_{ow}$  が測定困難でありデータがない。一方このような物質についても  $k'$  は測定可能であるため、 $k'$  を用いた吸着係数の予測は特に有用であると考えられる。

表 2 陰イオン交換カラムの保持係数及び  $K_{ow}$  と各分配定数の対数相関 (値は  $R^2$ 、括弧内はデータ数)

	$K_{MP/w}$	$K_{BSA/w}$	$K_{oc}$
$k'$ (WAX)	0.63 (39)	0.51 (45)	0.52 (22)
$K_{ow}$ (推定値)	0.20 (41)	0.04 (45)	0.54 (22)
$K_{ow}$ (実験値)	0.71 (22)	0.59 (26)	0.36 (22)

表 3 陽イオン交換カラムの保持係数及び  $K_{ow}$  と各分配定数の対数相関 (値は  $R^2$ 、括弧内はデータ数)

	$K_{oc}$	$K_{CM/w}$ カリナイト	$K_{CM/w}$ ベンタイト
$k'$ (SCX)	0.13 (55)	0.60 (37)	0.50 (25)
$k'$ (WCX)	0.39 (23)	0.28 (20)	0.02 (13)
$K_{ow}$ (推定値)	0.29 (53)	0.50 (41)	0.04 (25)
$K_{ow}$ (実験値)	0.29 (47)	0.59 (30)	0.13 (21)

本研究の成果として、メタクリレートベースの弱塩基性陰イオン交換樹脂が筋タンパク質/水分分配係数と非常に高い相関を示すことを発見した。イオン交換樹脂と筋タンパク質という、構造の異なる 2 つの固相への吸着係数が高い相関を示すことは、それぞれの固相における物質との分子間相互作用が類似していることを示唆している。これはひいてはイオン性物質についても中性物質で確立されてきたような相関法 (LFER など) を確立できる可能性を示していると考えられる。一方、BSA の吸着係数との相関は低く、立体 3 次元構造の影響についてはさらなる検討が必要である。HPLC 保持時間の測定は迅速、簡便で再現性が非常に高く、物性予測に用いることができれば多くの利点がある。本研究で用いたカラムの  $k'$  値は環境・生体成分/水分分配係数と  $R^2 = 0.5-0.6$  程度の相関を示す場合もあったが、信頼できる予測値を得るためにはさらに多くの種類のイオン交換カラムを検討し、より高い相関を示すカラムを見つける必要がある。

## 参考文献

[1] Henneberger, L.; Goss, K.-U.; Endo, S., Partitioning of Organic Ions to Muscle Protein: Experimental Data, Modeling, and Implications for in Vivo Distribution of Organic Ions. *Environmental Science & Technology* 2016, 50, (13), 7029-7036.

[2] Henneberger, L.; Goss, K.-U.; Endo, S., Equilibrium Sorption of Structurally Diverse Organic Ions to Bovine Serum Albumin. *Environmental Science & Technology* 2016, 50, (10), 5119-5126.

[3] Droge, S. T. J.; Goss, K.-U., Ion-Exchange Affinity of Organic Cations to Natural Organic Matter: Influence of Amine Type and Nonionic Interactions at Two Different pHs. *Environ. Sci. Technol.* 2013, 47, (2), 798-806.

[4] Droge, S. T. J.; Goss, K.-U., Sorption of Organic Cations to Phyllosilicate Clay Minerals: CEC-Normalization, Salt Dependency, and the Role of Electrostatic and Hydrophobic Effects. *Environ. Sci. Technol.* 2013, 47, (24), 14224-14232.

## 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 Henneberger, L.; Goss, K.-U.; Endo, S., Partitioning of Organic Ions to Muscle Protein: Experimental Data, Modeling, and Implications for in Vivo Distribution of Organic Ions. *Environmental Science & Technology* 2016, 50, (13), 7029-7036. DOI:10.1021/acs.est.6b01417, 査読有
- ② Henneberger, L.; Goss, K.-U.; Endo, S., Equilibrium Sorption of Structurally Diverse Organic Ions to Bovine Serum Albumin. *Environmental Science & Technology* 2016, 50, (10), 5119-5126. DOI:10.1021/acs.est.5b06176, 査読有

〔学会発表〕 (計 3 件)

- ① Satoshi Endo, Luise Henneberger, Kai-Uwe Goss, Sorption properties of Ionic organic chemicals: Correlations between ion exchange chromatography retention factors and environmental sorption coefficients, SETAC Europe 28th Annual Meeting, 2018
- ② 遠藤智司, Luise Henneberger, Kai-Uwe Goss, イオン交換クロマトグラフィー保持時間を指標としたイオン性有機化学物質の吸着係数の予測、第 52 回水環境学会年会、2018
- ③ 福井幹紘、遠藤智司、イオン交換樹脂による陰イオン性有機汚染物質の吸着—

樹脂の種類、物質の構造及び競合イオン濃度の影響、第 26 回環境化学討論会、2017

〔その他〕

ホームページ等

<https://sites.google.com/site/envchemendo/>

## 6. 研究組織

(1)研究代表者

遠藤 智司 (ENDO, Satoshi)

大阪市立大学・都市研究プラザ・テニユアトラック特任准教授

研究者番号：30748934

(2)研究協力者

Kai-Uwe Goss

Helmholtz Center for Environmental Research UFZ, Professor

Luise Henneberger

Helmholtz Center for Environmental Research UFZ, Researcher