ホウ酸イオン担持型陰イオン交換膜における糖輸送の律速段階

黒河達生*・青沼 奨・上原利夫・井川 学

神奈川大学 工学部 物質生命化学科
〒221-8686 神奈川県横浜市六角橋3-27-1

Rate-limiting Step in Sugar Transport across an Anion-exchange Membrane Fixed with Borate Ions

Tatsuo Kurokawa*, Susumu Aonuma, Toshio Uehara, and Manabu Igawa

Faculty of Engineering, Kanagawa University
3-27-1, Rokkakubashi, Kanagawa-ku, Yokohama 221-8686, Japan

Facilitated transport of sugar across an anion-exchange membrane fixed with borate ions was investigated, and it was found that the following three factors affected the flux of sugar: the glucose concentration in the source phase, borate ion concentration in the receiving phase, and linear velocity of the receiving phase of borate ion solution. In low glucose concentration regime, the flux of glucose was dependent on the concentration in the source phase. In high glucose concentration regime, the flux was dependent not on the glucose concentration but on the borate ion concentration in the receiving phase, which shows the rate-limiting step to be desorption from the membrane. When pure water was used as the receiving phase, the flux of glucose was independent on both the linear velocity of the source phase and the receiving phase, which shows the rate-limiting step to be diffusion. These findings indicate that the rate-limiting step of this system can be changed by the experimental conditions. The flux of glucose increased by about six times as the temperature was increased from 7 °C to 45 °C. Depending on temperature, the monosaccharides were separated from disaccharides and glycerol with high selectivity.

Key words : sugar transport / borate-sugar complex / rate-limiting step / linear velocity / unstirred layer

1. 緒 言

近年、製造工程からの廃液に含まれる有機溶質の膜分離について報告されており^{1,2)}、基礎的な研究例としてはイオン交換膜^{3~5)}による有機溶質の輸送が挙げられる。我々はこれまでに、亜硫酸水素イオンを担持した陰イオン交換膜によるアルデヒドの促進輸送⁶⁾、陽イオン交換膜に担持した金属イオンとの錯体形成によるアミノ酸の輸送を報告している⁷⁾。糖輸送の研究としては、炭水化物と複合体を形成する脂

肪親和性の強いキャリアー（ホウ酸誘導体など）を使用した支持液膜による各種の糖分離が報告されている^{8~11)}。我々はこの糖の輸送についても、ホウ酸イオンを担持した陰イオン交換膜による輸送について研究を行い、主に次の3点を明らかにしてきた^{12,13)}。第1に、ホウ酸イオンを担持した陰イオン交換膜を用いると、糖がホウ酸イオンとの錯体形成と解離により輸送される¹²⁾。第2に、原相の糖濃度は流束に影響を及ぼすが、一定の濃度を越えると変化しない¹²⁾。第3に、受相にホウ酸ナトリウム水溶液を用いると、糖流束がホウ酸イオン濃度に依存して増加する¹³⁾。この第2、第3点の知見から、輸送速度が膜透過のどの過程（分配、拡散、解離）で支配されているかを明らかにする必要がある。そこで、本研究では、溶液の流量を変えて膜界面の線速度を変

* Corresponding Author
Tel: 03-3723-2901
Fax: 03-3725-7822
E-mail: kurotat327@yahoo.co.jp

Fig. 1 Apparatus for transport experiment.

えることにより、流束に与える界面かきまぜ効果の影響を評価することで律速段階を解明することを主な目的としている。線速度と流束については、イオン交換膜を用いた無機イオンの中和透析の研究において報告しているが^{14, 15)}、本研究においては、受相をホウ酸ナトリウム水溶液として、原相、受相の溶液の流量条件を統一して、原相の糖濃度と受相ホウ酸イオン濃度が流束に与える影響について検討した。また、原相と受相の線速度の影響を別個に評価し、原相糖濃度が高い場合は、膜からの脱離過程が律速段階であることを明らかにした。さらに流束に与える温度の影響について、律速段階との関係から検討し、あわせて単糖の選択輸送についてスクロース、グリセロールとの混合溶液を用いて検討した。最後に、流束と線速度の関係について、非攪拌層の厚みと界面濃度の関係から理論式による検証を行った。

2. 実験

2.1 膜調製

本研究では、0.1 mmの厚さの陰イオン交換膜 (Selemion AMV, 旭硝子社製) を使用した。ホウ酸イオン担持型陰イオン交換膜 (大きさ 3×5 cm) の調製は、次の手順で行った。膜の洗浄 (30分間0.1 M水酸化ナトリウム水溶液に浸し、純水で洗浄) を3回繰り返し行い、OH⁻型陰イオン交換膜とした。この膜を0.1 M四ホウ酸ナトリウム水溶液に30分間浸漬した後、純水で洗浄する操作を3回繰り返した。膜に担持されたホウ酸イオンを定量するため、膜を水酸化ナトリウム水溶液に浸漬してホウ酸イオンを脱離させ、誘導結合プラズマ原子発光分析 (SPS 1500 (セイコー)) によってホウ素量を定量したところ、ホウ酸イオン担持陰イオン交換膜中のホウ酸イオン濃度は、 $2.12 \text{ (mmol cm}^{-3}\text{)}$ であった。この値は、陰イオン交換膜 ($2.0 \sim 2.5 \text{ mmol cm}^{-3}$) のイオン交換容

量にほぼ合致するものである。

2.2 透過実験および分析法

2.1節で得られた膜を有効膜面積 6 cm^2 として Fig. 1 に示す装置に装着し、0.2 Lの原相溶液および0.1 Lの受相溶液を、それぞれチューブポンプによって膜を隔てて循環させた。各溶液の循環流量は、線速度を変えた実験以外は全て一定 (5 mL min^{-1}) とした。透過実験は、6時間で行い、試料のサンプリングは原相および受相から30分ごとに行った。糖輸送に対する温度の影響を調べる時は、原相溶液、受相溶液およびセルを水で満たした恒温槽に入れて実験した。

セルの溶液の線速度 (cm min^{-1}) は、チューブポンプ (mL min^{-1}) の流量をセル内の溶液流路の断面積 (cm^2) で割ることにより算出した。これまでの研究より、物質輸送における透過係数は、非攪拌層 (境界膜) 付近における線速度の0.5~0.8乗に比例することが知られている。我々は、流束と線速度の0.6乗が最も高い相関を示すことを報告しており^{14, 15)}、本研究における結果も、この値を用いて算出した。糖濃度およびグリセロール濃度の定量にはイオンクロマトグラフ (BIO-IC, ダイオネックス) を用いた。

3. 結果および考察

3.1 糖の流束に対する原相糖濃度および受相ホウ酸イオン濃度の影響

受相に10 mMホウ酸ナトリウム水溶液を用いて、グルコースの流束に対する原相の糖濃度の影響を検討した。グルコースの流束は、原相糖濃度が低い場合は糖濃度に依存するが、高い場合には依存せず一定となった (Fig. 2a)。この流束と糖濃度の関係は、受相に純水を用いた場合の実験結果¹²⁾ と一致したことから、両者の関係は受相の組成によらないといえる。原相糖濃度が高濃度である場合に、原相側膜内の糖-ホウ酸イオン錯体の膜内濃度が飽和に達しているため¹²⁾、原相糖濃度の増加に関わらず、流束が一定となると考えられる。

次に、原相の糖濃度が高い条件 (10 mM) で、受相のホウ酸イオン濃度を変えることで流束への影響を検討した (Fig. 2b)。Fig. 2bに示すように、受相におけるホウ酸イオン濃度に依存して、グルコースの流束が増加した。受相ホウ酸イオン濃度の増加により、受相側膜界面において、受相ホウ酸イオンと糖-ホウ酸イオン錯体とのイオン交換反応が促進された結果、流束が増加したと考えられる。Fig. 2の結果より、原相の糖濃度が高濃度である場合、受相側での

Fig. 2 Effect of glucose concentration in source phase (a) and borate ion concentration in receiving phase (b) on flux. Source phase and receiving phase : glucose solution and 10 mM sodium borate solution, respectively (a) and 10 mM glucose solution and sodium borate solution, respectively (b).

ホウ酸イオン濃度が流束を律する因子であるといえる。すなわち、受相が純水の場合では、糖分子が膜内のイオン交換基にイオン結合しているホウ酸イオンと錯体生成と解離を繰り返して膜内を移動し、最後に糖分子として受相側に移動すると考えられる¹²⁾。一方、受相がホウ酸イオンの場合では、糖分子はホウ酸イオンとの錯体として膜内を移動し、受相のホウ酸イオンとの陰イオン交換反応によって錯体（ホウ酸イオンとの錯体であるため負電荷を帯びている）として膜から脱離することによって流束が増加すると考えられる¹³⁾。

3.2 糖の流束に対する線速度の影響

膜表面には非攪拌層があり、線速度を変えることで非攪拌層の厚みが変わるため、流束に影響を与える^{14, 15)}。そこで、原相グルコース濃度を 10 mM とし

Fig. 3 Effect of linear velocity of source phase solution (a) and receiving phase solution (b) on glucose flux. Source phase: 10 mM glucose, receiving phase: 10 mM sodium borate solution (●) or pure water (■), linear velocity of opposite side solution: fixed at 15 (cm min⁻¹).

たときのグルコース流束に対する線速度の影響を検討した。Fig. 3に、流束に対する原相の線速度および受相の線速度の影響を示す。グルコースの流束は、受相の組成（ホウ酸ナトリウム水溶液または純水）に関わらず、原相線速度の増加に依存せず、一定であった (Fig. 3a)。この要因として、原相線速度の増加によって、原相側膜界面における非攪拌層の厚みが減少するが、原相側膜内の糖-ホウ酸イオン錯体の膜内濃度が飽和に達しており、取り込みのプロセスが律速段階になっていないため流束が増加しないと考えられる。

一方、受相線速度への依存性については、純水を受相とした場合は依存しなかったが、ホウ酸ナトリウム水溶液を受相とした場合は強く依存した (Fig. 3b)。このことから、純水が受相の場合、糖分子の膜内拡散が糖輸送の律速段階であるといえる。

Fig. 4 Effect of temperature on glucose flux. Source phase: 10 mM glucose, receiving phase: pure water.

一方、ホウ酸ナトリウム水溶液を受相とした場合、輸送の律速段階は受相溶液中ホウ酸イオンとのイオン交換反応による糖-ホウ酸イオン錯体の膜からの脱離プロセスになると考えられ、このため非攪拌層が薄くなり受相界面へのホウ酸イオンの供給速度が増加すると流束が増加する。なお、受相のホウ酸イオンはイオン交換反応によって膜内に移動するが、原相溶液中の電気的に中性のグルコースとイオン交換することは無いので膜内のホウ酸イオンの原相への移動は無視できる。

3.3 糖の流束に対する温度の影響および単糖の選択輸送

Fig. 4に流束に対する温度の影響を示す。受相には純水を用いた。流束は温度に依存して増加した。45℃における流束は7℃の場合の約6倍であった。受相が純水であることから、Fig. 4より流束の律速段階は膜内拡散の過程であると考えられる。すなわち、温度の上昇により、糖の膜内拡散が促進された結果、流束が増加したと考えられる。糖分子は膜内のホウ酸イオンと錯体形成と解離を繰り返して拡散すると考えられており¹²⁾、温度増加により錯体形成と解離の各反応速度が増加したと考えられる。

Fig. 5に、単糖（グルコース、フルクトース）、二糖（スクロース）およびグリセロール混合液を原相とし受相を純水とした場合の流束と温度の関係を示す。単糖の流束は、温度に依存して増加するが、スクロースおよびグリセロールの流束は小さく、温度依存性を示さなかった。スクロースの流束が単糖に比べて小さいのは、二糖であるため分子が大きく、膜内拡散における移動抵抗が大きいためと考えられ

Fig. 5 Effect of temperature on flux of organic solutes, glucose (○), fructose (●), sucrose (□) and glycerol (■). Source phase: 5 mM glucose, 5 mM fructose, 5 mM sucrose and 5 mM glycerol, receiving phase: pure water.

る。グリセロールは、単糖より低分子であり、水溶液中でホウ酸イオンと錯体を形成することから、流束は単糖より大きいと想定されたが、45℃におけるグルコースの流束は、グリセロールの約6倍であった。実験後の膜を水酸化ナトリウム水溶液で処理して溶質を脱離させると、大部分が単糖であることが確認された。水溶液中における溶質とホウ酸イオンとの1対1錯体の安定度定数の対数値 ($\log K$) は、25℃においてグルコースが1.80¹⁷⁾、グリセロールが1.50¹⁸⁾であることから、膜への分配はグルコースの方が容易であり、このことがより高い流束の要因になっているものと考えられる。

3.4 流束の測定値と輸送式

糖の流束の支配因子について輸送式により考察する。

一般に膜内の流束 J については、フィックの拡散第一法則より次のように示される。

$$J = (DK/L) \cdot \Delta C \quad (1)$$

ここで、 L は膜厚、 D は拡散係数、 K は分配係数、 ΔC は原相、受相間の濃度の差を表す。

この系のイオン交換膜内拡散については拡散係数 D_m 、膜厚 L_m 、原相側錯イオンの膜内濃度 $[SB]_{MS}$ 、受相側錯イオンの膜内濃度 $[SB]_{MR}$ を用いて(1)式は次の(2)式のように表すことができる。なお、本項で用いる膜内、膜界面における錯イオンおよびホウ酸

Fig. 6 Transport of sugar across anion-exchange membrane fixed with borate ion in case of pure water in receiving phase (a) and in case of sodium borate solution in receiving phase (b).

イオン濃度，膜厚 L_m ，非攪拌層の厚み L_f について Fig. 6 に示す。

$$J = (D_m / L_m) ([SB]_{MS} - [SB]_{MR}) \quad (2)$$

Fig. 3a の受相が純水の場合，糖分子のみがイオン交換基のホウ酸イオンと錯体形成と解離を繰り返して膜内を移動し，最後に解離して膜から脱離すると考えられる¹²⁾。脱離は，膜内の糖-ホウ酸イオン錯体 SB の分解反応によるので，流束 J は次式のように表される。

$$J = k_{-1} [SB]_{MR} - k_1 [S]_{mr} [B]_{MR} \quad (3)$$

(3) 式の右辺において， k_{-1} は錯イオンの分解反応， k_1 はその逆反応，すなわち錯イオン生成速度定数である。また， $[S]_{mr}$ は受相膜界面糖濃度， $[B]_{MR}$ は受相側膜界面ホウ酸イオン濃度である。

受相の糖濃度が非常に高くならない限り，(3) 式の第 2 項は無視できる。このように考えると (2) 式と組み合わせ，流束は次のように表される。

$$J = D_m k_{-1} [SB]_{MS} / (L_m k_{-1} + D_m) \quad (4)$$

式 (4) は，流束が原相側錯イオンの膜内濃度 $[SB]_{MS}$ によって決まり，受相の状況に依存しないことを示している。この式 (4) によるなら $[SB]_{MS}$ の増加によって流束は増加し， $[SB]_{MS}$ が飽和に達すると流束は一定となるという結果¹²⁾ とよく対応している。

Fig. 3b において，受相がホウ酸イオン溶液の場合，受相のホウ酸イオンの添加によりイオン交換反応が脱離過程に加わったため，輸送速度が増大する。また，受相側膜界面における非攪拌層の厚さが大きな影響を与えている。この場合，イオン交換反応は早いので受相側膜界面での平衡を次のように考えることができる。

$$K = [B]_{MR} [SB]_{mr} / ([SB]_{MR} [B]_{mr}) \quad (5)$$

この式で $[B]_{mr}$ と $[SB]_{mr}$ はそれぞれ受相膜界面のホウ酸イオンと錯イオンの濃度である。非攪拌層の輸送についてはその厚みを L_f とし，非攪拌層における拡散係数を D_f とすると，流束は受相側ホウ酸イオンの膜界面濃度 $[B]_{mr}$ と受相バルク濃度 $[B]_r$ ，受相バルク錯イオン濃度 $[SB]_r$ を用いて次のように表される。

$$\begin{aligned} J &= D_f / L_f \cdot ([B]_r - [B]_{mr}) \\ &= D_f / L_f \cdot ([SB]_{mr} - [SB]_r) \end{aligned} \quad (6)$$

ここで式を簡略化するために，実験の初期における $[SB]_{mr} \gg [SB]_r$ の条件下で検討することとし，ホウ酸イオン濃度に比して錯イオン濃度は非常に小さいので， $[B]_r$ と $[B]_{mr}$ の差は非常に小さいと考えられるので， $[B]_r$ と $[B]_{mr}$ はほぼ等しいとみなすことができる。また， $[B]_r \gg [SB]_r$ なので受相と接する膜の界面において $[B]_{MR} \gg [SB]_{MR}$ であり， $[B]_{MR}$ はイオン交換容量 C_{ex} とほぼ等しいと考えることができる。このように考えると (5) 式と (6) 式は次のように考えられる。

$$K = C_{ex} [SB]_{mr} / ([SB]_{MR} [B]_r) \quad (7)$$

$$J = D_f [SB]_{mr} / L_f \quad (8)$$

上の 2 つの式と (2) 式より，次の式が導かれる。

$$J = D_m D_f K [B]_r [SB]_{MS} / (L_m D_f K [B]_r + L_f D_m C_{ex}) \quad (9)$$

この (9) 式は，非攪拌層の厚み L_f を減少させると糖の流束を増加させることを意味しており，非攪拌

層の厚みは受相の線速度の上昇により減少するので、Fig. 3bの結果とよく対応している。なお、受相の線速度を充分大きくするなら、 $L_f = 0$ と見なしうるのでこの(9)式は次の(10)式に変形される。

$$J = D_m [\text{SB}]_{\text{MS}} / L_m \quad (10)$$

この(10)式は、流束が原相の濃度、膜内拡散定数、膜厚のみにより決定されることを意味しているが、線速度をあげることは受相界面でのホウ酸イオンの供給量を充分に大きくするFig. 2bと同じ意味を持っている。また、(10)式は $[\text{SB}]_{\text{MS}}$ の増加によって流束は増加し、 $[\text{SB}]_{\text{MS}}$ が飽和に達すると流束は一定となるため、Fig. 2aの結果と一致している。

4. 結 言

糖の流束は、原相糖濃度が低濃度の場合には糖濃度の増加と共に増加した。一方、原相糖濃度が高濃度の場合、流束は糖濃度の増加に依存せず、一定となった。受相がホウ酸塩水溶液で、原相糖濃度が高濃度の場合には、糖の流束は原相線速度の増加に依存せず、一定であった。一方、糖の流束は受相線速度の増加に依存して増加することが示された。そのため、原相糖濃度が低濃度の場合には糖分子の膜への分配が、高濃度の場合には、糖-ホウ酸イオン錯体の膜からの脱離が流束の律速段階である。

純水を受相として使用した場合、糖流束の律速段階は膜内の拡散であった。したがって、律速段階は、受相の組成（ホウ酸ナトリウム水溶液または純水）によって変わることが示された。受相が純水の場合、温度に依存して、流束が増加したことから、糖分子の膜内拡散の促進が要因と考えられた。スクロースおよびグリセロールに対する単糖の選択性は温度増加によって高くなることが明らかになった。

謝 辞

本研究は、文部科学省の助成による神奈川大学学術フロンティアプロジェクト（2006年～2011年）の一環として行われたものである。本論文をまとめるまでに有益な御助言を頂いた査読者に感謝します。

文 献

- 1) Turano E, Curcio S, Paola MG, Calabro V, and Iorio G : *J. Membr. Sci.*, **209**, 519-531(2002)
- 2) Bogliolo M, Bottino A, Capannelli G, Petro M, Servida A, Pezzi G, and Vallini G : *Desalination*, **108**, 261-271(1997)
- 3) Shigemasa Y, Okamoto S, Sashiwa H, and Saimoto H : *Chem. Lett.*, **3**, 433-436 (1990)

- 4) White KM, Smith BD, Duggan PJ, Sheahan SL, and Tyndall EM : *J. Membr. Sci.*, **194**, 165-175 (2001)
- 5) Koval CA and Spontarelli T : *J. Am. Chem. Soc.*, **110**, 293-295 (1988)
- 6) Igawa M, Fukushi Y, Hayashita T, and Hoffmann MR : *Ind. Eng. Chem. Res.*, **29**, 857-861 (1990)
- 7) Igawa M and Suzuki H : *J. Ion Exch.*, **14**, 253-256 (2003)
- 8) Hassoune H, Rhallou T, Métayer M, and Verchère JF : *J. Membr. Sci.*, **248**, 89-98 (2005)
- 9) Touji K, Tbeur N, Hor M, Verchère JF, and Hlaibi M : *J. Membr. Sci.*, **337**, 28-38 (2009)
- 10) Gardiner SJ, Smith BD, Duggan PJ, Karpa MJ, and Griffin GJ : *Tetrahedron*, **55**, 2857-2864(1999)
- 11) Draffin SP, Duggan PJ, Duggan SA, and Norrild JC : *Tetrahedron*, **59**, 9075-9082 (2003)
- 12) Igawa M, Sekimoto T, and Okochi H : *J. Membr. Sci.*, **98**, 177-180 (1995)
- 13) Igawa M, Yamamoto K, and Matsumoto K : *Bull. Soc. Sea Water Sci.*, **60**, 199-200 (2006)
- 14) Igawa M, Hiraga H, and Nakamura T : *J. Ion Exch.*, **14**, 249-252 (2003)
- 15) Igawa M, Mikami K, and Okochi H : *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **76**, 437-441(2003)
- 16) Tanaka Y : *J. Membr. Sci.*, **266**, 6-17 (2005)
- 17) Verchère JF and Hlaibi M : *Polyhedron*, **6**, 1415-1420 (1987)
- 18) Aruga R : *Talanta*, **32**, 517-519 (1985)

(Received 3 May 2013 ;

Accepted 25 July 2013)