慶應義塾大学学術情報リポジトリ
Keio Associated Repository of Academic resouces

Title	陰イオン交換濾紙膜を用いたアスパラギン酸の選択透過
Sub Title	Study of selective-permeability of aspartic acid through anion exchange paper membrane
Author	永田, 峻也(Nagata, Shunya) 井上, 浩義(Inoue, Hiroyoshi)
Publisher	慶應義塾大学日吉紀要刊行委員会
Publication year	2017
Jtitle	慶應義塾大学日吉紀要. 自然科学 (The Hiyoshi review of natural science). No.62 (2017. 9) ,p.23- 29
JaLC DOI	
Abstract	Amino acids and small peptides are digested from dietary protein to be absorbed by the small intestine. Such an amino acid has been used as a complete digested food in the medical and welfare fields. Amino acid has been studied for not only nutritional utilization but also pharmacological activities. This research using membrane separation aims the selective-permeability of aspartic acid from mixture of proteins and peptides in industrial processes. In the results, selectivity of aspartic acid through anion exchange paper membrane dominates with electrostatic driving force not with diffusional driving force.
Notes	原著論文
Genre	Departmental Bulletin Paper
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN10079809-20170930-0023

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the KeiO Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

Hiyoshi Review of Natural Science
Keio University No. 62, 23-29（2017）

陰イオン交換濾紙膜を用いたアスパラギン酸の選択透過

永田峻也*・井上浩義**

Study of selective-permeability of aspartic acid through anion exchange paper membrane

Shunya Nagata, Hiroyoshi Inoue

Summary――Amino acids and small peptides are digested from dietary protein to be absorbed by the small intestine. Such an amino acid has been used as a complete digested food in the medical and welfare fields. Amino acid has been studied for not only nutritional utilization but also pharmacological activities. This research using membrane separation aims the selective-permeability of aspartic acid from mixture of proteins and peptides in industrial processes. In the results, selectivity of aspartic acid through anion exchange paper membrane dominates with electrostatic driving force not with diffusional driving force.

Keywords: Aspartic acid, anion exchange paper membrane, membrane potential, membrane conductance

1. 背景

アスパラギン酸（略号：Asp, D）は，アスパラギンの加水分解物から単離された，単独では酸味を有する酸性アミノ酸である。非必須アミノ酸で，生体内ではオキサロ酢酸にグルタミンのアミノ基を転移することにより生合成される。代謝は，脱アミノ化によりアキサロ酢酸に戻るか，アスパラギン酸アンモニアリアーゼにより脱アミノ化されフマル酸となり，クエン酸回路に入っていくかする。アスパラギン酸の特性を表 1 に示す（『化学便覧』[1] も参照されたい）。

* 慶應義塾高等学校（〒 223-8524 神奈川県横浜市港北区日吉 4-1-2）：Keio Senior High School, 4-1-2, Hiyoshi, Kohoku-ku, Yokohama, Kanagawa 223-8524, Japan.
** 慶應義塾大学医学部化学教室（〒 223-8521 神奈川県横浜市港北区日吉 4-1-1）：Department of Chemistry, Keio University School of Medicine, 4-1-1, Hiyoshi, Kohoku, Yokohama, Kanagawa 223-8521, Japan. E-mail: hiroin@keio.jp [Received June 12, 2017]

表 1．アスパラギン酸の化学的性質

化学式	$C_4H_7NO_4$
モル質量	133.10
等電点	2.77
溶解度（g/ 100 mL 水）	0.42（20℃），0.85（40℃），1.70（60℃）
ファンデルワールス半径	91

アミノ酸は従来から高カロリー輸液法（total parenteral nutrition；TPN）に用いられてきた。TPN は栄養障害の治療において著しい効果を示してきた。また現在，腸管粘膜の萎縮やそれに伴う bacteria translocation，すなわち腸管防御機能の破壊に伴う腸管内常在細菌などの体内侵入が問題となっているが，これを改善するために，腸管栄養法（enteral nutrition；EN）が消化管を経由する生理的な栄養法として注目されている。いずれの療法においてもアミノ酸が使用されるが，とくに腸管栄養法では病患の状態や投与状況によって，①半消化態栄養剤，②消化態栄養剤，および，③成分栄養剤が使い分けられている。本研究で注目するタンパク質栄養に関しては，①半消化態栄養剤については「タンパク質，ポリペプチド」が使用され，②消化態栄養剤では「アミノ酸，ならびにジペプチドおよびトリペプチド」が使用される。③成分栄養剤においては「アミノ酸」のみが使用されている。とくに成分栄養剤は，すべての成分が化学的に明記できる物質だけで構成されており，アミノ酸も消化過程を経ることなく吸収される。その他には腎疾患，とくに腎不全期の低タンパク質維持，肝不全，とくに肝性脳症時のアミノ酸バランスの改善などに用いる経腸栄養剤でも，とうもろこしなどから抽出・分解・精製されたアミノ酸は大きな役割を果たしている。

本研究では，栄養療法に用いるアミノ酸の製造，とくにアスパラギン酸の分離・精製に関する。本研究では，膜技術，とくに安価で，交換・廃棄が容易で，その結果，清浄環境を維持することができる濾紙膜を用いたアミノ酸分離を試みた。

2. 実験方法

本研究に使用した陰イオン交換濾紙膜は，慶應義塾大学医学部化学教室において作成したものを使用した。本陰イオン交換濾紙膜は，以下の工程で製造した。まず，セルロース（和光純薬）にトリメチルヒドロキシプロピルアンモニウム基を導入した（図 1）。このセルロースに通常のパルプ繊維（和光純薬）を混合し，濾紙膜を作成した。濾紙膜の作成は，まず上記混合物を，繊維表面が十分に結合するように叩解した。その後，希薄なパルプ繊維分散液から，ナイロンネット（100 メッシュ）を用いて抄紙した。その後，濾紙膜を不織布にはさんで，余分な水分を除くために，ローラーを用いて十分に圧した。さらに，残った自由水を取り除くために，60℃のホットプレートで加熱した。

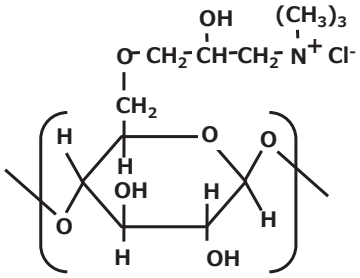

図 1．トリメチルヒドロキシプロピルアンモニウム基を導入したセルロースの化学構造

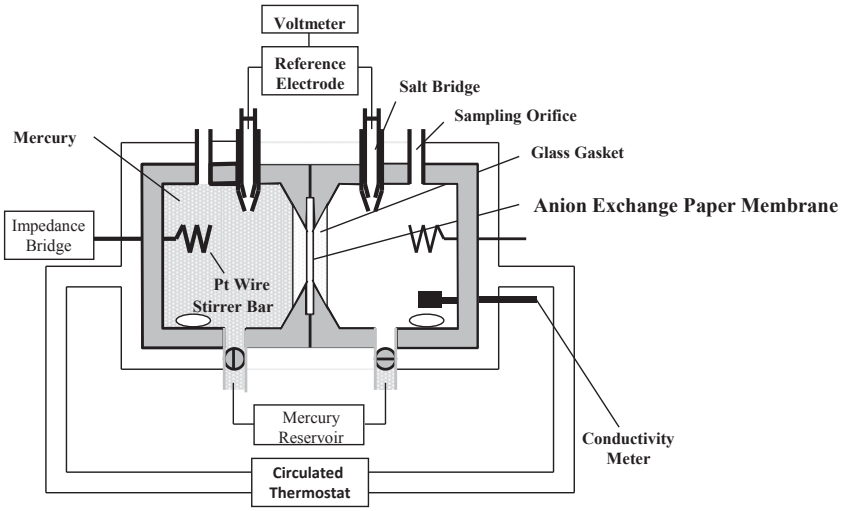

図 2．電気化学的測定のためのセル概略図

本研究では，当該陰イオン交換濾紙膜を用いて，アスパラギン酸イオンの膜透過性に関して電気化学的測定を行なった。系全体は，アスパラギン酸自体が水に難溶であるため，比較的低濃度域で研究を行なった。当該陰イオン交換濾紙膜を介して 2 つの水溶液相をつくり，一方にアスパラギン酸水溶液（0.001 M，0.002 M，0.005 M，0.01 M，0.02 M）を置き（これを I 相と呼ぶ），他方にアスパラギン酸水溶液を 0.01 M で固定した（これを II 相と呼ぶ）。実際の電気化学的測定では，アクリル製のセルに陰イオン交換濾紙膜をはさみ込み，両水溶液相にアスパラギン酸水溶液を入れ，それぞれの水溶液相を撹拌した（図 2）。系全体が定常状態に移行したのちに，両水溶液相に塩橋を加え，それを対照電極に接続し，DUAL DISPLAY MULTIMETER（DL-2051，KENWOOD，横浜）で膜電位を測定した。また，膜電位測定後，両相へ水銀を導入し，さらに白金線を介して膜抵抗を測定した（膜電導度測定）。試薬は和光純薬株式会社より購入したものを再精製することなく使用し，純水は 18 MΩ以上の抵抗値のものを使用した。

3. 理論

イオンの膜透過の評価においては，複数の電荷を有するか，あるいは持たないイオン，あるいは分子が存在する場合にも，膜を透過する流束とそれに共役する熱力学的駆動力とを結びつける現象論方程式を用いることができる。本研究系では，アスパラギン酸が完全解離していると仮定する。その場合，実験系内はアスパラギン酸の等電点が表1の“2.77”より，水素イオンとアスパラギン酸イオンがおもに存在するので，以下の線形現象論方程式を組み立てることができる。

$$\begin{pmatrix} i_{\mathrm{H}} \\ i_{\mathrm{Asp}} \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} g_{\mathrm{H\cdot H}} & g_{\mathrm{H\cdot Asp}} \\ g_{\mathrm{Asp\cdot H}} & g_{\mathrm{Asp\cdot Asp}} \end{pmatrix} \begin{pmatrix} V-V_{\mathrm{H}} \\ V-V_{\mathrm{Asp}} \end{pmatrix} \tag{1}$$

ここで，下付きHおよびAspは，それぞれ，水素イオンおよびアスパラギン酸イオンを示す。また，iはイオン膜電流，$g_{\alpha\cdot\beta}$（αまたはβは，HまたはAsp）は膜電導度行列の因子，Vは膜電位，ならびに，V_{H}，V_{Asp}は，それぞれ，水素イオン平衡電位およびアスパラギン酸イオン平衡電位を表わす。

式（1）は，膜を介した水素イオンとアスパラギン酸イオンの電気化学的挙動を，簡潔な係数を用いて表現できる。しかし，式（1）をさらに電気化学的測定因子に沿って改変することで，より詳細なアスパラギン酸イオンの膜透過に関する知見を得ることができる。つまり，非平衡熱力学に基づく膜透過理論に従えば，膜透過係数行列の各々の因子，$P_{\alpha\cdot\beta}$（αまたはβは，HまたはAsp）は物質の膜透過における下付文字で表わされる因子の寄与を定量的に表わすことができる。本実験系では，以下のような行列式で表わすことができる。

$$\begin{bmatrix} J_{\mathrm{H}} \\ J_{\mathrm{Asp}} \end{bmatrix} = -\begin{bmatrix} P_{\mathrm{H\cdot H}} & P_{\mathrm{H\cdot Asp}} \\ P_{\mathrm{Asp\cdot H}} & P_{\mathrm{Asp\cdot Asp}} \end{bmatrix} \begin{bmatrix} a_{\mathrm{H}}^{\mathrm{II}}\exp(FV/2RT) - a_{\mathrm{H}}^{\mathrm{I}}\exp(-FV/2RT) \\ a_{\mathrm{Asp}}^{\mathrm{II}}\exp(-FV/2RT) - a_{\mathrm{Asp}}^{\mathrm{I}}\exp(FV/2RT) \end{bmatrix} \tag{2}$$

ここで，Jは濾紙膜を透過するイオン流束，Vは膜電位，aはイオン活量，Fはファラデー定数，Rは気体定数，そしてTは絶対温度である。上付のIおよびIIは溶液相の番号を表わす。V_{H}およびV_{Asp}はH^+およびAsp^-についてNernst式から計算された平衡膜電位である。なお，式（2）では，溶媒（水）の流束は無視できるものと仮定している。

H^+およびAsp^-についての電導性膜透過係数，P_{H}およびP_{Asp}は，式（2）の行列因子の関数として，膜電位および膜電導度測定の結果から求めることができる。

$$\begin{aligned} P_{\mathrm{H}} &= P_{\mathrm{H\cdot H}} - P_{\mathrm{Asp\cdot H}} \\ &= \frac{t_{\mathrm{H}}G_{\mathrm{m}}RT}{F^2(a_{\mathrm{H}}^{\mathrm{I}}a_{\mathrm{H}}^{\mathrm{II}})^{1/2}} \frac{[F(V-V_{\mathrm{H}})]/2RT}{\sinh[F(V-V_{\mathrm{H}})]/2RT} \end{aligned} \tag{3}$$

$$\begin{aligned} P_{\mathrm{Asp}} &= P_{\mathrm{Asp\cdot Asp}} - P_{\mathrm{H\cdot Asp}} \\ &= \frac{t_{\mathrm{Asp}}G_{\mathrm{m}}RT}{F^2(a_{\mathrm{Asp}}^{\mathrm{I}}a_{\mathrm{Asp}}^{\mathrm{II}})^{1/2}} \frac{[-F(V-V_{\mathrm{Asp}})]/2RT}{\sinh[-F(V-V_{\mathrm{Asp}})]/2RT} \end{aligned} \tag{4}$$

ここで，tは輸率，そしてG_{m}は膜電導度である。

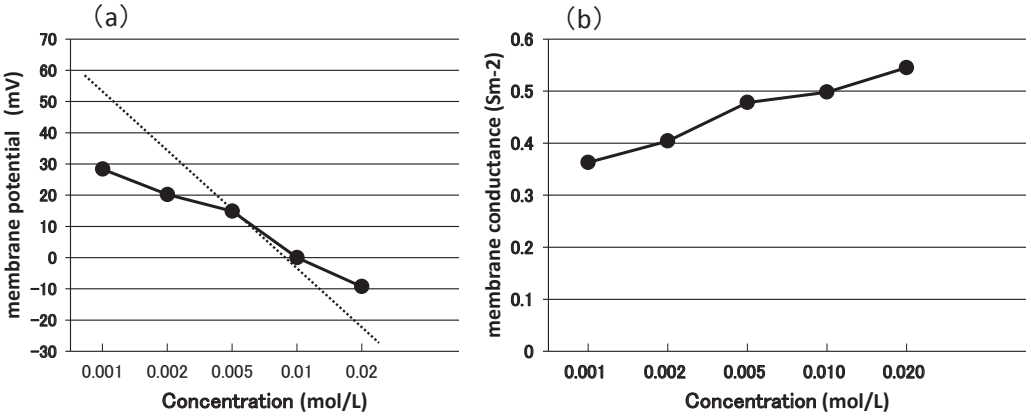

図 3．測定された膜電位（a）および膜電導度（b）。膜電位（a）の破線は Nernst 電位を示す。

本実験系では使用しなかったが，今回測定した膜電位のほかに，イオン流束（単位時間内に膜を介して移動するイオン量）測定によって，陽イオン交換濾紙膜を介して流れる電流がゼロの場合，式（2）は以下のように減縮される。

$$\begin{bmatrix} J_{\mathrm{H}} \\ J_{\mathrm{Asp}} \end{bmatrix}_{I=0} = -\begin{bmatrix} P^{0}_{\mathrm{H\cdot H}} & 0 \\ 0 & P^{0}_{\mathrm{Asp\cdot Asp}} \end{bmatrix} \begin{bmatrix} a^{\mathrm{II}}_{\mathrm{H}}\exp(FV_0/2RT) - a^{\mathrm{I}}_{\mathrm{H}}\exp(-FV_0/2RT) \\ a^{\mathrm{II}}_{\mathrm{Asp}}\exp(-FV_0/2RT) - a^{\mathrm{I}}_{\mathrm{Asp}}\exp(FV_0/2RT) \end{bmatrix} \tag{5}$$

ここで，V_0 は膜電流ゼロの場合の膜電位，P^{0}_{H} および P^{0}_{Asp} は，それぞれ，H^{+}および Asp^{-}についての拡散性膜透過係数である。

4. 実験結果と考察

電気化学的測定では，膜電位測定の結果（図 3），理想的陽イオン選択性を示す Nernst 式から導かれた電位（図 3（a）破線）よりも低濃度側と高濃度側で大きく外れることが明らかとなった。まず，グラフが右肩下がりになっていることから，この陰イオン交換濾紙膜が目論見どおり陰イオン透過性であることがわかる。また，濃度差が大きな領域で膜電位が Nernst 電位と大きく外れていることから，濃度差が大きな場合には，その量的処理ができなくなり，イオン選択性は小さくなってしまうことが明らかになった。言い換えれば，膜を介して接する両水溶液相の濃度差が小さいときは，比較的理想的なアスパラギン酸イオン選択性を示す。

この理想的なイオン透過からの偏移の原因は，幾つか考えられる。陰イオン交換濾紙膜が十分な電荷密度を有していないため，陰イオンの選択性が十分でない。あるいは逆に，透過するイオンであるアスパラギン酸イオンが通常の金属イオンとは異なり，大きな分子サイズを有するためにイオン表面電荷密度が低くなり，イオン－膜の静電効果が十分に発揮できなかったと考えられる。

膜電導度の測定結果（図 3（b））では，Ⅰ相側の溶液濃度増加に伴って膜電導度が大きくなっていることが明らかになった。これは，Ⅰ相側の溶液濃度が増加するにつれて膜内イオン濃

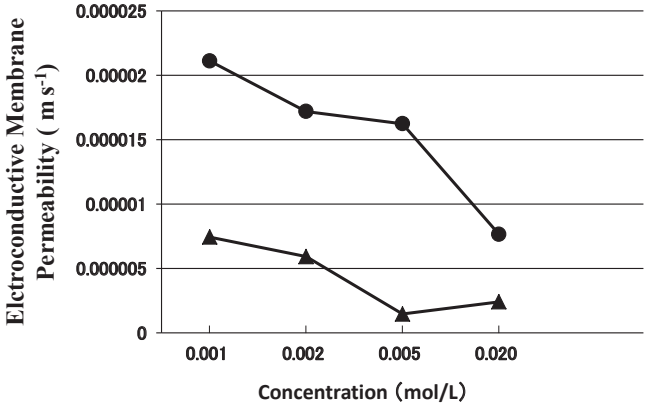

図 4. 算出された導電性膜透過係数

度が増加しているためと考えられる。この結果，Ⅰ相溶液からⅡ相溶液へのイオンの流れを考える場合，交換膜相／Ⅰ相溶液間の分配係数が高まり，イオンの選択性を上げていることが考えられる。

Ⅰ相からⅡ相へアスパラギン酸イオンが移動する際，溶液相→膜および膜→溶液相では，静電的エネルギーによってイオンは移動する。そして，陰イオン交換濾紙膜は正の電荷を帯びているので，陰イオンであるアスパラギン酸イオンが膜に入ることで電気が通りやすくなる。このときの「電気の通りやすさ」を表わしているのが導電性であり，その測定結果を式（3）および（4）に導入して導電性膜透過係数を導いた（図 4）。このとき, H（陽イオン）と Asp（陰イオン）の導電性膜透過係数を比べると，Asp の導電性膜透過係数のほうが数倍（3 ～ 4 倍）大きいことが明らかになり，陰イオン交換濾紙膜としてのアスパラギン酸イオンの透過性を果たしていることが明らかとなった。

5. 結論・展望

今回の結果では，多くの陰イオン交換基を膜内に入れた濾紙膜は，比較的高い陰イオン選択性を有することが明らかとなった。また，今回製造した濾紙膜のような高密度の繊維が折り重なった構造では，アミノ酸の透過も容易ではないものの，イオン交換基の導入により，静電的選択性が付与されることが数値的に示唆された。

謝辞

本研究の一部は，平成 26 ～ 29 年度グローバルサイエンスキャンパス事業（独立行政法人科学技術振興機構）ならびに平成 28 ～ 30 年度 JSPS 科研費基盤研究（C）（No. 16 K 01032）の助成を受けました。ここに深謝申し上げます。

参考文献

1) 日本化学会編：化学便覧（基礎編；改訂 5 版），東京，丸善（2003）

2) Inoue, H.：Influence of glucose and urea on 125 I transport across an anion exchange paper membrane. *Appl. Radiat. Isotopes*, **54**, 595–602 (2001)

3) Inoue, H.：Effects of co-ions on transport of iodine ions through a non-conventional anion exchange paper membrane. *J. Membane Sci.*, **228**, 209–215 (2004)

4) Inoue, H., Kagoshima, M., Yamasaki, M., Honda, Y.：Radioactive iodine waste treatment using electrodialysis with an anion exchange paper membrane. *Appl. Radiat. Isotopes*, **61**, 1189–1193 (2004)

5) Inoue, H.：Radioactive iodine and chloride transport across a paper membrane bearing trimethylhydroxypropylammonium anion exchange groups. *J. Membrane Sci.*, **222**, 53–57 (2003)

6) Kaibara, K., Inoue, H., Aritomi, T.：Multi-Ionic Potential and Membrane Permeability Matrix. III. Diffusion and Concentration of Ions within Membrane Phase as a Controlling Factor to Ion Permselectivity. *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **62**, 2362–2368 (1989)

7) Inoue, H., Kagoshima, M.：Removal of 125 I from radioactive experimental waste with anion exchange paper membrane. *Appl. Radiat. Isotopes*, **52**, 1407–1412 (2000)

8) Inoue, H., Lakshmi, D. S., Yamasaki, M., Yamagishi, S.：Removal of pertechnetate ion (99 mTcO_4^-) from radioactive waste using anion-exchange paper membrane. *Environ. Protect. Engin.*, **31** (3–4), 119–126 (2005)

9) Kimizuka, H., Nagata, Y., Kaibara, K.：Nonequilibrium thermodynamics of the ion and solvent transports through ion-exchange membrane. *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **56**, 2371–2379 (1983)