

総合論文

分子選択的前処理を目的とした 分子インプリント法の応用技術開発

久保 拓也^{1,2}

選択的な分子認識能を示す人工材料として、分子インプリント法に基づく種々の応用技術を開発し、その分子選択的な吸着能評価及び環境汚染物質の分析前処理剤としての可能性を評価した。目的物質の構造の一部あるいは類似物質を擬似的な鑄型分子として用いるフラグメントインプリント法やイオン性官能基の官能基間距離認識を可能とする新規方法論により得られた分離媒体によって、内分泌^{かく}乱化学物質、ハロゲン化芳香族、水溶性天然毒物などの選択的分離/濃縮が達成された。さらに、官能基間距離認識の応用として、光触媒性酸化チタン上へ認識部位を導入することで、水環境中の毒性物質の選択的捕捉・光分解が達成された。

1 はじめに

分子選択的な分離/濃縮技術は、合成化学、医薬品、環境分析、等様々な分野で重要視されていることは言うまでもない。一般的に、特定の分子を選択的に分離する技術は、アフィニティカラムに代表される生体分子由来の相互作用を利用した媒体が用いられており、それ以外はオクタデシル基結合型（ODS）シリカゲル、スチレンジビニルベンゼン系樹脂、による疎水性相互作用を利用した分離、あるいは種々のイオン交換樹脂を用いた静電相互作用による分離が汎用である。

一方、選択的な分子認識能を有する人工媒体の開発として、分子インプリント法と呼ばれる、いわゆる分子鑄型技術が1990年代からヨーロッパを中心に積極的に研究が進められてきた^{1)~6)}。その基本的な概念はFig. 1に示すとおり、はじめに、目的物質を直接鑄型分子として用い、目的物質と化学的な相互作用可能な機能性モノマーとの複合体を形成する。用いられる化学的な相互作用は、水素結合、疎水性相互作用、静電相互作用などの非共有結合性の相互作用が一般的であるが、一部、共有結合を利用した方法も報告されている。次に、この複合体を架橋剤（シリカゲル等も用いられる）存在下で重合することで、複合体を取り込んだ状態で架橋高分子が合成される。最後に、種々の溶媒を用いた洗浄により、鑄型分子のみを取り除くことによって、目的物質である“鍵”に対して選択的な分子認識部位“鍵穴”を持つ、媒体を得ることができる。同法は、

比較的簡単な操作で選択的な分子認識を得ることができ、種々の応用研究がされているが、特に環境分析への応用が近年の主流である。

しかしながら、分子インプリント法にはいくつかの問題点があり、とりわけ環境分析への応用を考えた場合には、克服すべき課題があり、著者らはこれらの問題点をクリアすべき新規概念に基づく方法論を提唱し、さらに、環境分析の前処理剤への応用について研究を進めてきた^{7)~21)}。考えられる問題点は、次の通りである、i) 毒性物質や希少な物質への適用が困難である、ii) 架橋構造内部の鑄型分子を完全に洗い流すことが困難である、iii) 水溶性化合物への適用が困難、iv) 構造柔軟性化合物への適用が困難、v) 架橋構造内部に官能基が埋まる（閉鎖的な部位が出来る）、vi) 過剰量の機能性モノマーを使用するため認識部位が不均一、等である。著者らは、上記のうち、i, ii)については、フラグメントインプリント法、iii~vi)については、官能基間距離固定化法という、新たな概念を創出した。本稿では、それぞれの手法についての詳細及びその成果について述べる。

2 フラグメントインプリント法

上記に示すとおり、一般的な分子インプリント法によって得られた媒体を環境分析に組み込む場合には、いくつかの問題がある。上記、i, ii)がそれに該当するが、従来法では目的物質を直接使用するために、毒性の高い物質や天然物のような希少な物質に対しての適用が困難となる。さらに、Fig. 1のように、分子認識部位は架橋高分子内部に構築されることから、溶媒洗浄で完全に鑄型分子を取り除くことは容易ではなく、使用時の急激な圧力、溶媒変化によって、残存する鑄型分子が溶出する恐れがあり、環境

E-mail: kubo@anchem.mc.kyoto-u.ac.jp

¹ 東北大学大学院環境科学研究科: 980-8579 宮城県仙台市青葉区荒巻字青葉 6-6-20

² 現在所属 京都大学大学院工学研究科材料化学専攻: 615-8510 京都府京都市西京区京都大学桂

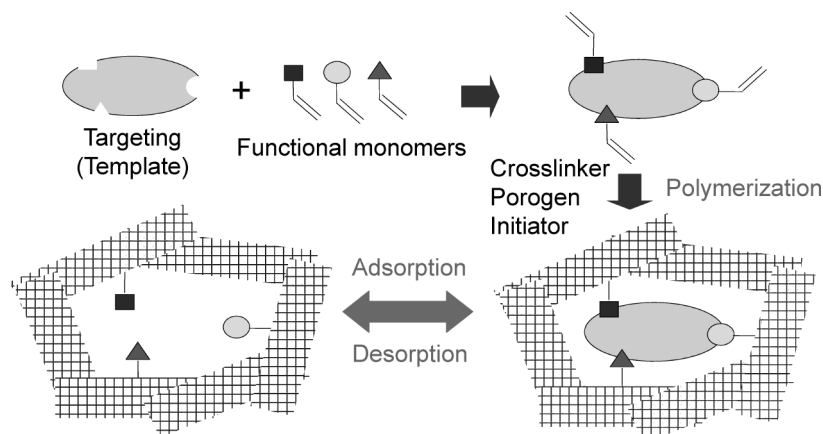


Fig. 1 Concept of authentic molecular imprinting technique

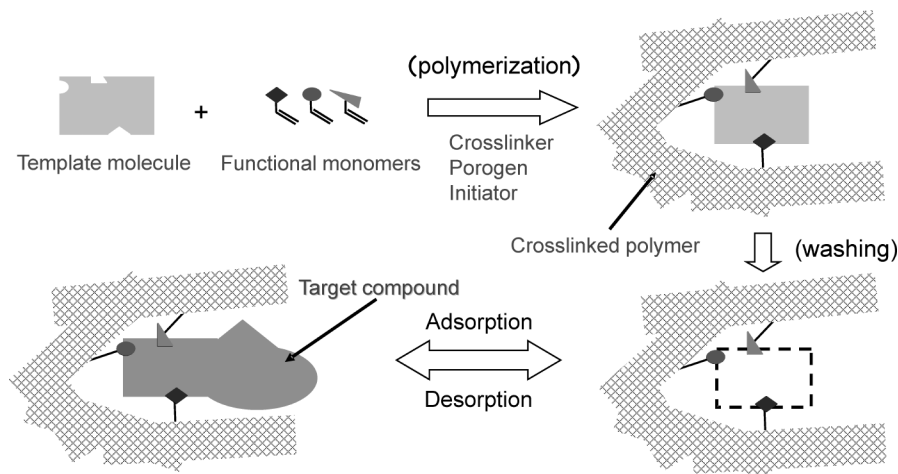


Fig. 2 Concept of the fragment imprinting technique

分析のエラーを引き起こす原因となる。これらの問題を回避するために、著者らは、目的物質を直接使用しない新たな手法として、フラグメントインプリント法を提唱した。その概念を Fig. 2 に示した。本法では、目的物質の構造の一部あるいはその構造類似物質を擬似的な鋳型分子として用いることで、従来法と同等の選択的分子認識能を得ることが可能となる。これまでに得られた成果のうち、代表的な対象物として、内分泌攪乱化学物質としてのビスフェノール A やエストラジオール、ダイオキシン、ポリ塩化ビフェニル (PCB) 等に代表されるハロゲン化芳香族類、あるいは天然毒物などがあげられる^{7)~10)14)17)}。ここでは、例として、ハロゲン化芳香族のうち、臭素化ビスフェノール A (BPA) を対象として、液体クロマトグラフィーにおけるクロマトグラムを Fig. 3 に示した。本研究では、機能性モノマーとして 4 ビニルピリジン (4Vp)、架橋剤としてエチレンジメタクリレート (EDMA) を用いて、均一径粒子を合成し、液体クロマトグラフィー用カラムとして溶質の保持挙動を評価した。Fig. 3 には二つのクロマトグラム

を示したが、(b) には、2,6-bis-(trifluoromethyl)-benzoic acid (BTFB) を鋳型分子として用いた分離剤、(a) には、鋳型分子を用いない (機能性モノマーを含む) 分離剤の結果を示している。これらのクロマトグラムから明らかとなり、BPA 骨格の水酸基に対して、オルト位に二つの臭素を有する同族体、3,3',5,5'-Tetra-Br-BPA に関して、(b) において保持の大幅な増加が確認できる。それに対して、臭素一置換体である、3-Br-BPA については、いずれの分離剤についても保持が同等である。この保持の違いは、鋳型分子として用いた BTFB によって構築された認識部位での構造認識が寄与しており、分子構造計算の結果では、臭素原子とトリフルオロメチル基の分子体積がほぼ同等であることが確認されている¹⁴⁾。

さらに、フラグメントインプリント法の応用例として、水酸化 PCB の選択的「群」認識について述べる。上記と同じく、種々の鋳型分子を用いて分離剤を合成し、液体クロマトグラフィーを用いて、選択性の評価を行った。19 種の水酸化 PCB 同族体を用いて各同族体における保持挙動を

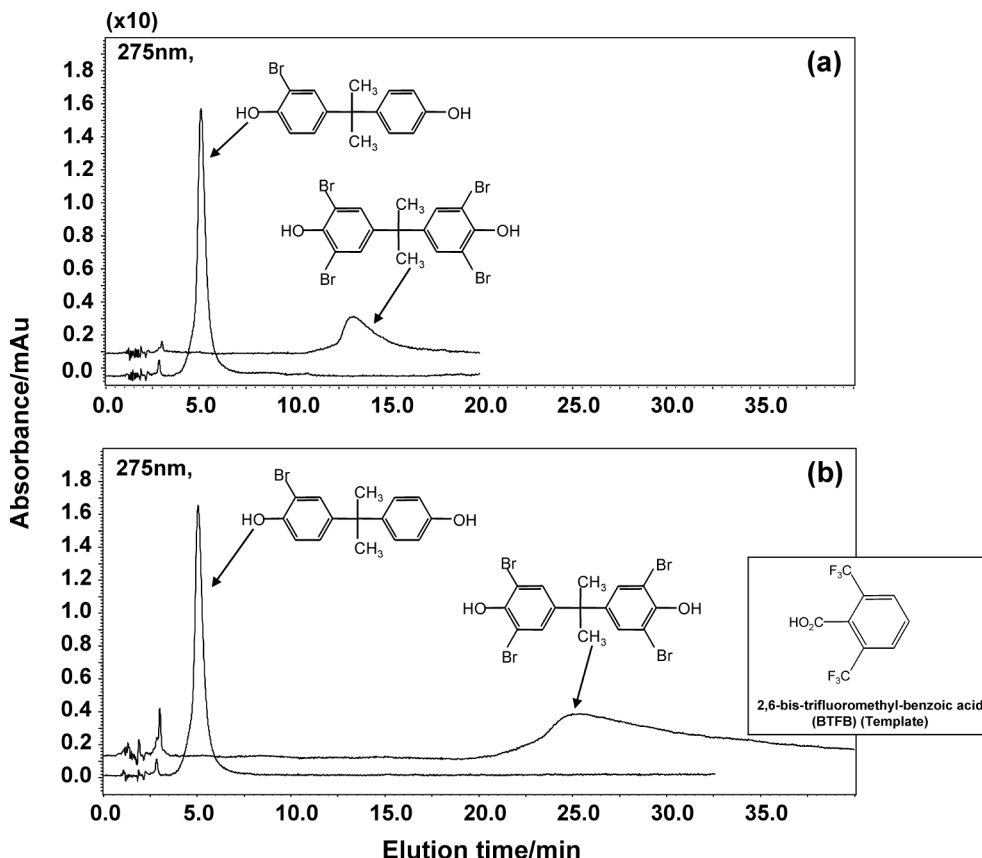


Fig. 3 Chromatograms for Br-BPAs on prepared polymer column

(a), Blank polymer prepared without template ; (b), BTFB imprinted polymer. Chromatographic conditions : mobile phase, 90 % aqueous MeOH ; column size, 150 mm $\times$ 4.6 mm i.d. ; flow rate, 1.0 mL/min ; temperature, 40 $^{\circ}$ C ; detection, photo diode array (275 nm)

詳細に評価した。その結果、水酸化PCBの塩素原子の置換位置によって、保持の違いが見いだされた。興味深い結果として、鋳型分子の違いによって、水酸化PCB同族体の pK_a に基づく選択的保持が確認された。具体的には水酸化PCBの水酸基の隣の炭素での塩素原子の置換の有無で pK_a が大きく異なり、さらに、興味深いことにその違いが甲状腺ホルモンとしての活性に相関があるという結果が報告されている²²⁾。これらを背景として、得られた分離剤を用いて、水酸化PCBの選択的分離を試みた。Fig. 4には、19種の水酸化PCB同族体の液体クロマトグラフィーにおける分離結果を示した。(a)は一般的なODSカラムを用いた場合のクロマトグラム、(b)は、鋳型分子としてbiphenyl-4-carboxylic acid (BCA)を用いて合成したポリマー分離剤(架橋剤: EDMA, 機能性モノマー: 4Vp)におけるクロマトグラムである。予想されたとおり、汎用のODSカラムを用いた場合には、分離性能が高く、同族体の分離が鮮明である。この分離は、言うまでもなく疎水性相互作用による分離である。これに対して、(b)の分離においては、同族体の pK_a に基づく群としての分離が達成されている。つまり、甲状腺ホルモンとしての活性を示す同族体につい

てのみ、選択的に分離されたことを意味し、鋳型分子の選択によって、毒性の異なる同族体のみを選択的に分離した一例である¹⁷⁾。

このように、フラグメントインプリント法を用いることで、目的物質の構造の一部あるいはその類似物質の構造認識、さらには pK_a 等の活性認識が可能であることが分かった。特に、ハロゲン化芳香族類への応用が期待でき、実試料レベルでの分析前処理剤として有効である。しかしながら、本法では、従来の分子インプリント法と同じく、比較的疎水的な目的物質のみが対象物質となり、さらに、従来法を逸脱する概念を含まないため、上述のiii)～vi)の問題点は克服されていない。

3 官能基間距離固定化法

一般的な分子インプリント法では、鋳型-モノマー複合体の溶解、多孔質のために種々の有機溶媒を用いる。必然的に、鋳型分子自体も有機溶媒に可溶であることが必要となり、結果的に比較的疎水的な物質のみが目的物質とされてきた。しかし、環境中の毒性物質のうち、特に水環境中に存在するアルカロイド等は、その構造内にイオン性の官

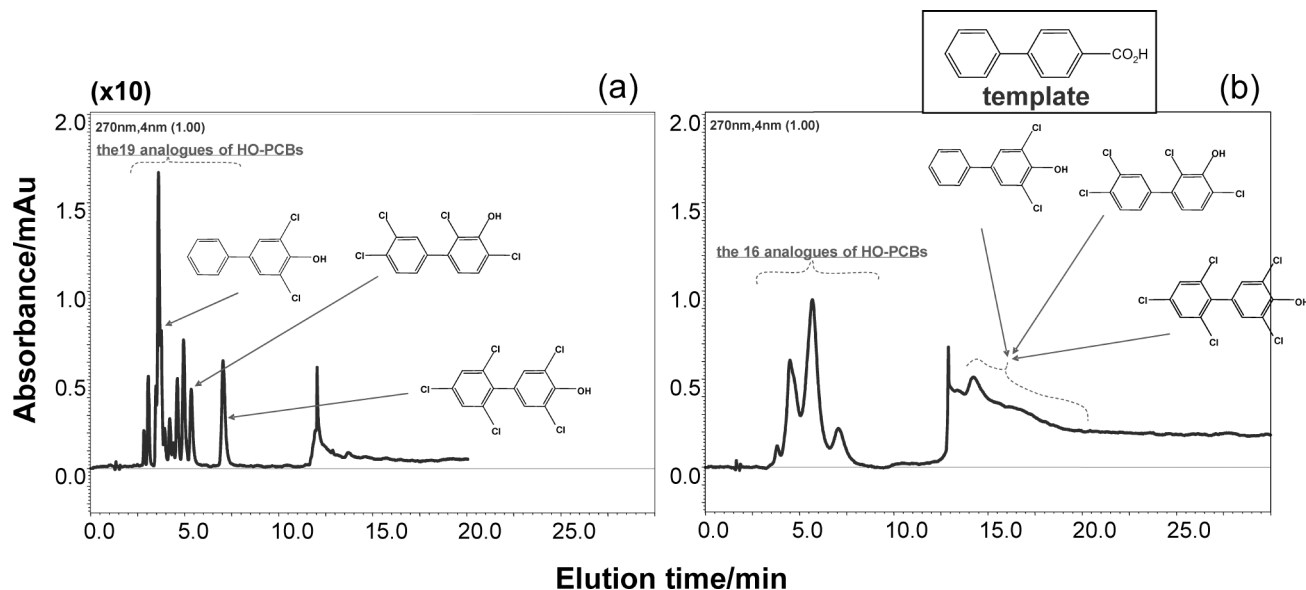


Fig. 4 Chromatograms for HO-PCBs on ODS or imprinted polymer column
column, Chromatographic conditions : Inertsil ODS-3 (150 mm × 4.6 mm i.d.); mobile phase, (A) MeCN/H₂O = 8/2 ; (B) MeCN/0.1 % aqueous formic acid = 8/2, 0–10 min ; 100 % A, 10–20 min ; 100 % B, step-wise gradient ; flow rate, 1.0 mL/min ; temperature, 40 °C ; detection, photo diode array (270 nm)

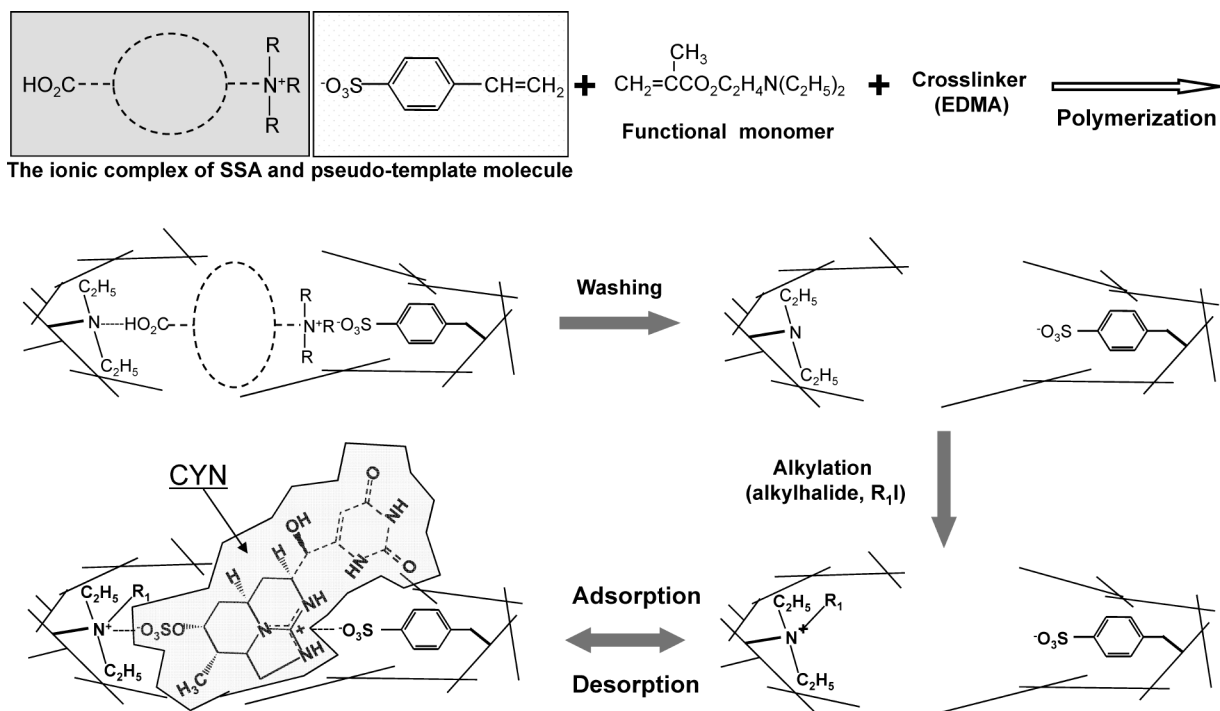


Fig. 5 Concept of interval immobilization technique for CYN
SSA, *p*-styrene sulfonic acid ; EDMA, ethyleneglycol dimethacrylate

能基を含む場合が多く、水溶性であるため分子インプリント法の目的物質としては不適であった。そこで、著者らは、生体内部における分子認識（クラレ様物質等）をヒントとして、“官能基間距離固定化法”という新たな概念を提唱した。その例として、藍藻毒の一種である、シリンドロスパ

モブシン（CYN）を目的物質とした結果を示す。CYNの分子構造、及び分離剤合成の概念図をFig. 5に示した。この手法では、目的物質のイオン性官能基間距離を勘案した鑄型分子用いて、まず、同じくイオン性の機能性モノマーとのイオン結合型錯体を合成する。ここで得られる錯体は、

Table 1 Binding data determined by Scatchard analysis

	K_{a1} (M^{-1})	K_{a2} (M^{-1})	N_1 (μ mol/g)	N_2 (μ mol/g)
Blank	2.7×10^4	2.3×10^3	1.4	8.1
TCBA-MIP	8.9×10^4	3.2×10^3	0.82	7.6

鋳型分子、機能性モノマーいずれもが水溶性であるにもかかわらず、錯体は有機溶媒に可溶となる。さらに、第二の機能性モノマーと架橋剤との重合反応の後、鋳型分子を取り除き、アルキルハライドによる三級アミンの四級化によって、相異なる電荷を持った官能基が、一定距離で固定化することが可能となる。得られた結果の一部を Table 1 及び Fig. 6 に示した (MIP, molecularly imprinted polymer)。ここで、鋳型分子としては、tributyl-(4-carboxybenzyl)-ammonium chloride (TCBA) を用いた。吸着等温評価におけるスキャッチャードプロットとそこから得られる結合定数の結果から、距離固定型の分離剤において CYN に対する選択性が見いだされた¹¹⁾¹²⁾。この手法によって、従来の分子インプリント法では不可能とされてきた水溶性物質への応用が可能となり、さらに、距離認識という新たな概念を取り入れたことによって、次に続く別の手法が展開された。それらについて、後述する。

4 三次元的な分子認識について

典型的な分子インプリント法では、Fig. 1, 2 に示すように、分子認識サイトは、架橋高分子の内部に構築されるため、剛直なサイトが形成され、結果として、目的物質も芳香環等を含む比較的剛直な分子が好適である。したがって、分子内の構造変化が著しい高柔軟性の物質は対象外とされてきた。しかし、上述の距離固定の概念からも明らかのように、官能基を三次元的な距離として認識する場合には、柔軟な構造を有する物質であっても選択的な分子認識が起こりうると予想し、官能基の距離認識について、詳細な検討を行った。本研究では、貝毒として知られるドウモイ酸 (Fig. 7) を目的物質として、多数のカルボン酸を網羅的に鋳型分子として利用して、分離剤を合成し、液体クロマトグラフィーにおける保持選択性を詳細に評価した。さらに、構造安定性をエネルギー的観点から評価するために、クロマトグラフィーの移動相中での安定構造計算を行った。

液体クロマトグラフィーでの評価の結果、鋳型分子として、単純な脂肪酸である pentane-1,3,5-tricarboxylic acid (1,3,5-PeTA) を用いた時に、非常に高い選択的な保持が得られた。また、分子モデリングでの計算の結果、Fig. 7 に示すように (ここで、図中の (a)~(c) はドウモイ酸構造

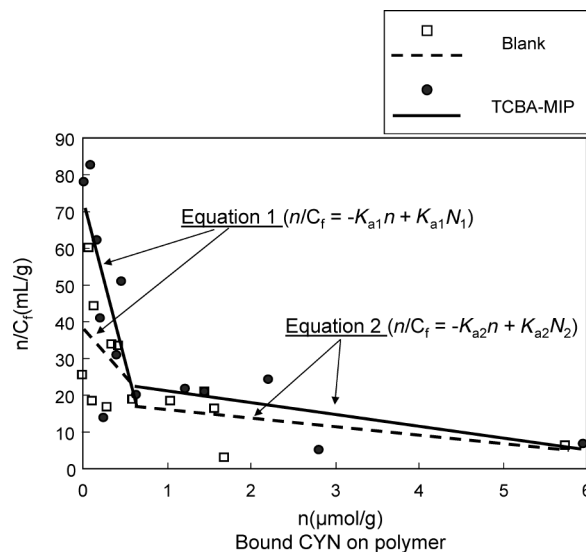


Fig. 6 Scatchard plot for CYN on prepared polymers. The association constants (K_a) and number of binding sites (N) were determined from the slope and y-intercept, respectively, of fitted line ($n/C_f = -K_a n + K_a N$) obtained by least squares regression

内の三つのカルボキシル基を示している), (1) の移動相中での最安定構造に加え、一部のイオンの脱水素化によって、構造が大きく変化し、その際の自由エネルギー変化が 6.68 kJ/mol であることが明らかとなった。これに対して、クロマトグラフィーから得られた保持の変化を自由エネルギー変化に換算した結果を Table 2 に示す。これらの結果を総合的に考察すると、移動相中でのドウモイ酸の構造変化にともなう自由エネルギー変化に対して、例えば、1,3,5-PeTA を鋳型とした分離剤上での選択的保持によるエネルギー安定性は、その変化を大きく上回っており、つまり、分子認識部位に取り込まれることによって、エネルギー的により安定な構造となることが示された。Fig. 8 には、ここで得られる三次元的な分子認識のイメージ図を示した。この結果から、目的物質が構造柔軟物質であっても、三次元的な官能基の距離を考慮することによって、目的物質の自己的な構造変化により、選択的な捕捉が可能であることが示され、一般的に考えられていた分子インプリント法における選択的分子認識の可能性を拡充させた¹⁸⁾。さらに、同分離剤は、擬似的に調製したドウモイ酸を含む貝抽出物の精製にも適用が可能であり、固相抽出剤としてこの分離剤を用いることによって、Fig. 9 に示すとおり、濃縮前後でドウモイ酸の効率的な選択的濃縮が達成されたことが分かり、実用的にも有効であることが実証された。

5 距離認識技術の応用

上記の結果から、官能基の距離認識によって、高い選択的分子認識を獲得できることが実証された。一方で、分子

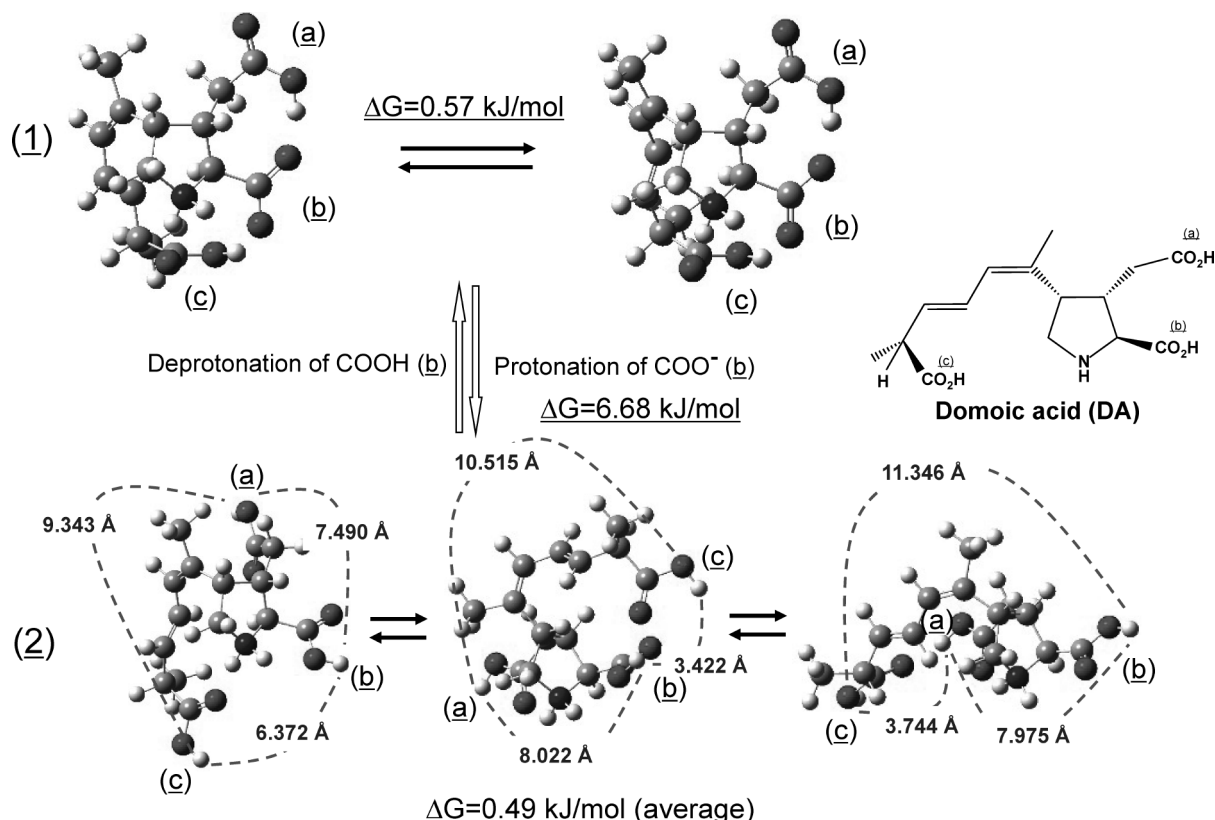


Fig. 7 Alteration of ΔG by conformation changes in domoic acid in chromatographic mobile phase condition (1), Most stable conformation of domoic acid and (2), conformation of domoic acid after protonation of COOH (b)

Table 2 Gibbs Free Energies of domoic acid on Chromatographic Evaluation

	k' of DA	$\Delta G - \Delta G$ (on BASE) (kJ/mol)	$\Delta G - \Delta G$ (on BLANK) (kJ/mol)
BASE	0.10	—	—
BLANK	1.10	6.04	—
1,3,5-PeTA-MIP	53.5	15.8	9.79

Chromatographic conditions : mobile phase, MeCN/0.05 % AcOH aqueous = 7/3 (v/v); flow rate, 1.0 mL/min ; temperature, 30 °C ; detection, photodiode array (241 nm); column size, 150 mm × 4.6 mm i.d. BASE : Only crosslinker (EDMA) was used for the preparation without a functional monomer (4Vp) and any template molecules. BLANK : EDMA and 4Vp were used for preparation without any template molecules.

インプリント法の問題としては、先に示した v), vi) が克服されていない。つまり、認識サイトの均一性と架橋内部に存在する非稼働的な認識部位の存在である。従来法では、鋳型分子を効率的に作用させるため、鋳型分子に対して 2~10 倍の機能性モノマーをモル比として用いる。結果として、用いた鋳型分子はすべて認識部位構築に作用すると予想される一方で、過剰量に加えられた機能性モノマーは、不均一な保持を生む原因となり、結果的に分子認識の

均一性を低下させることになる。また、架橋高分子で高度に架橋された分子認識部位の一部は、架橋高分子に対して閉鎖的に構築されるため、溶媒が接触できない部位ができてしまう。一般的には、合成に用いた鋳型分子 20~70 % が実際の認識部位に寄与することが実験的に示されており、導入した鋳型分子が効率的に作用しているとは言い難い。

そこで、上記で示した距離固定化の概念を用いて、より効率的な人工的な分子認識の構築法を提唱した。Fig. 10 にその概念図を示す。本法では、はじめに架橋剤のみで多孔性ポリマーを合成する。この BASE ポリマーに未反応のビニル基が多く残存している。次に、機能性モノマーと鋳型分子のイオン結合型錯体を合成し、先に合成した BASE ポリマーとラジカル開始剤存在下で反応させることで、ポリマー細孔表面にのみ錯体が付加し、距離選択的な認識部位が構築できる。例えば、貝毒として知られるサキシトキシンを目的物質として、分離剤を合成した際の鋳型分子の構造を Fig. 11 に示した。ここでは、比較のために官能基間距離が異なる鋳型分子も示している。これらの鋳型分子を用いて分離剤を合成し、バッチ吸着で無毒のデカルバモイルサキシトキシン (dcSTX) の吸着実験を行った。その結果、Fig. 12 に示すとおり、すべての分離剤においてイオン交換

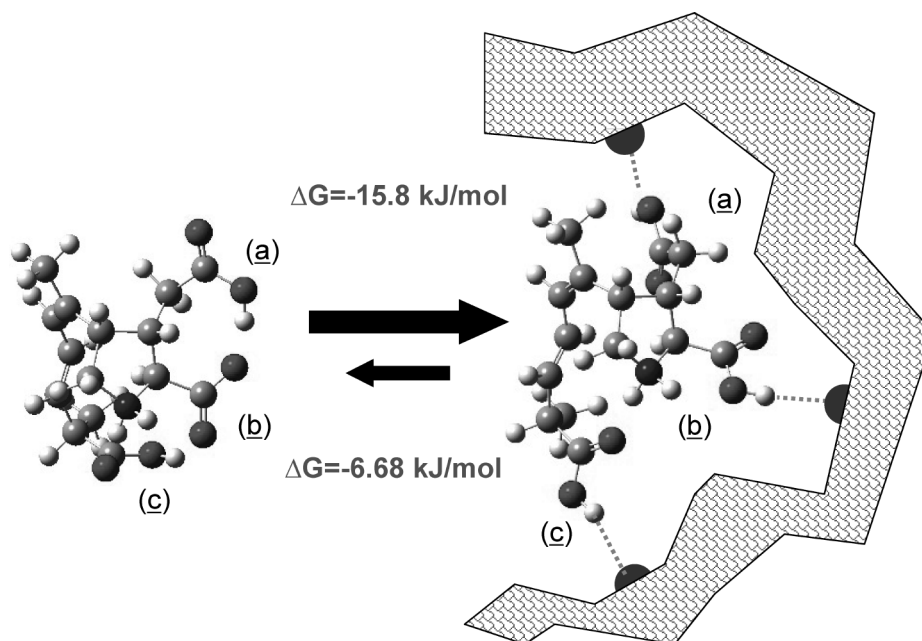


Fig. 8 Image of stabilization of domoic acid on the recognition site

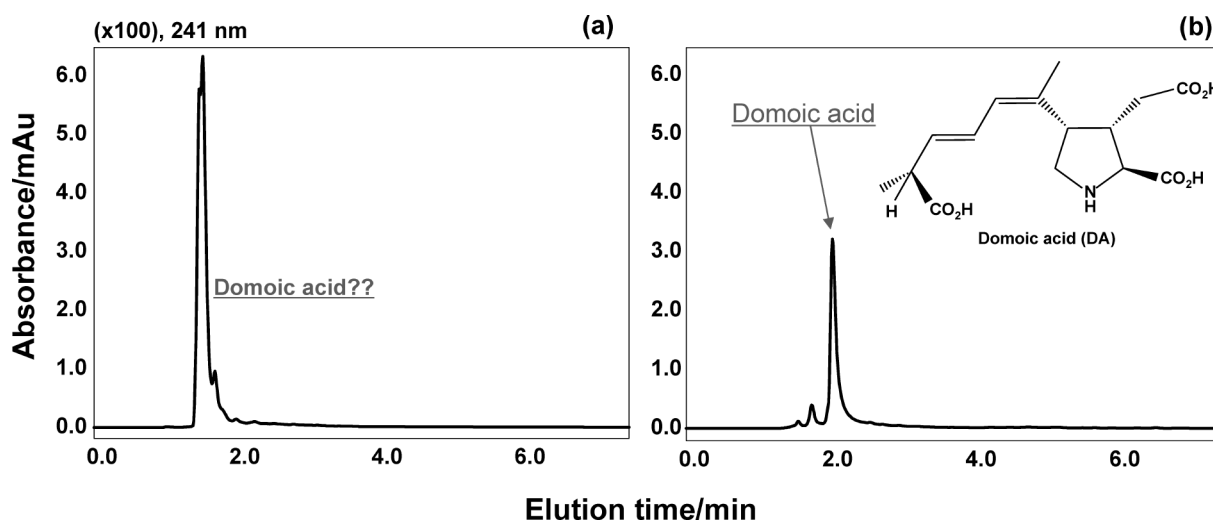


Fig. 9 Chromatograms of blue mussel extracts containing domoic acid

(a), non-pretreated sample ; (b), passed-through fraction from 1,3,5-PeTA imprinted polymer. Chromatographic conditions for determination of domoic acid : column, Mightysil (Kanto Chemical, Japan, 150 mm $\times$ 4.6 mm i.d.); mobile phase, MeCN/0.05 % AcOH aqueous = 3/7 ; flow rate, 1.0 mL/min ; temperature, 30 $^{\circ}$ C ; detection, photodiode array (241 nm); injection volume, 1 μ L.

容量はほぼ同等であるにもかかわらず、dcSTXに対する吸着率は大きく異なり、官能基間距離が類似する4-(tributylammoniummethyl)-benzyltributylammonium chloride (TBTA)を用いた分離剤 (TBTA-P)において、高い吸着率が得られた。この結果は、官能基間の距離固定化が効率的に達成された結果であり、距離認識による吸着能の増加が確認された。さらに、同分離剤を固相抽出剤として使い、擬似的な貝抽出物を処理した結果、Fig. 13の通り、試料液中からdcSTXが完全に除去されていることが分

かる。加えて、分離剤に吸着したdcSTXは、高濃度の塩溶液で押し出すことで定量的に回収できることから、リサイクル性にも優れた分離剤であることが示された¹⁹⁾²⁰⁾。

6 無機材料上での分子認識

上述の通り、従来の分子インプリント法での問題点を種々の方法論を導入することで、克服し、特に親水性化合物の選択的分子認識の獲得としては、官能基間距離の認識が有効であることを学術面、実用面から証明することに成

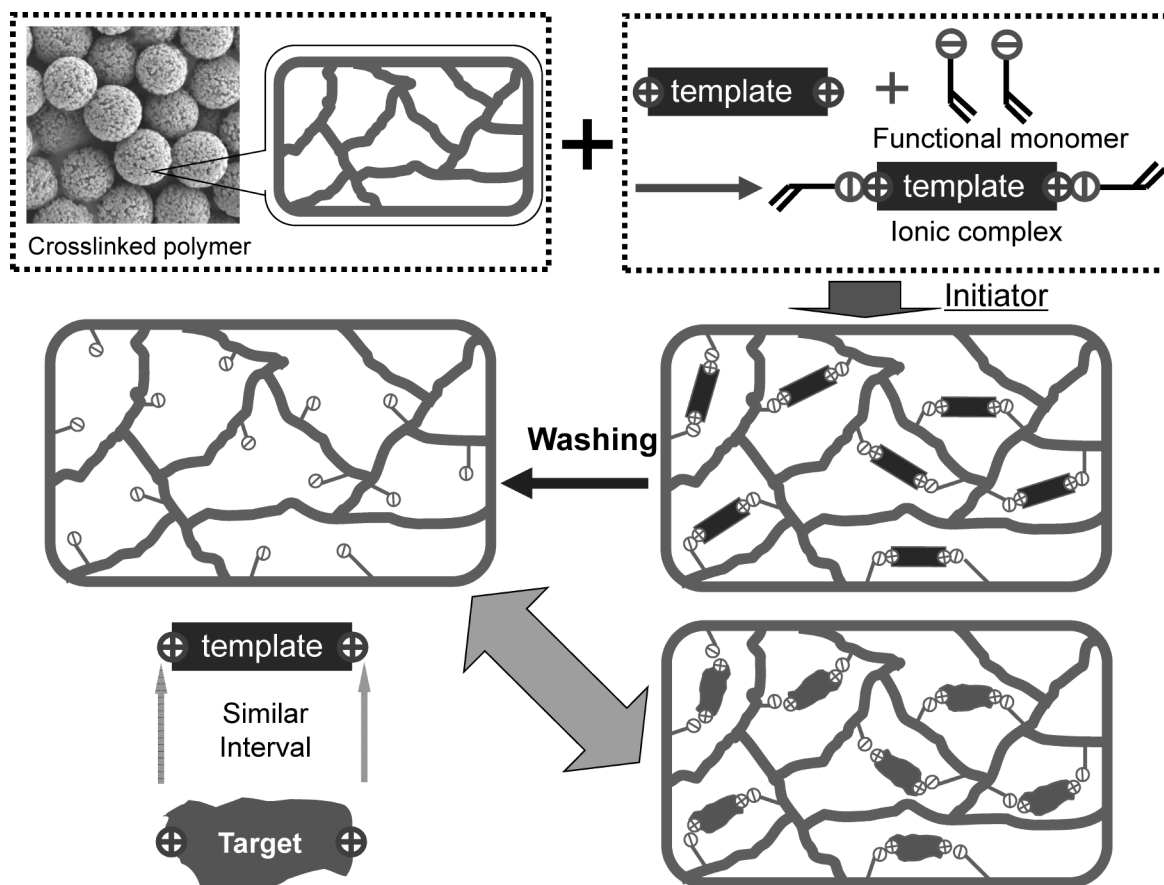


Fig. 10 Concept underlying molecular recognition of water-soluble ionic compounds by the interval immobilization technique

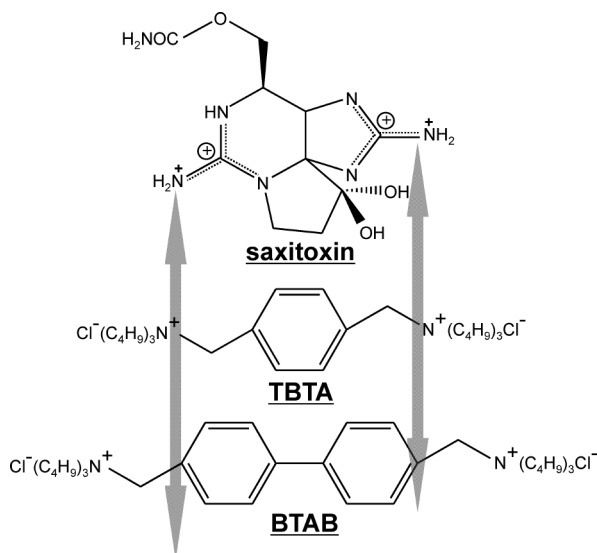


Fig. 11 Structure of saxitoxin (STX) and template molecules

TBTA, 4-(tributylammoniummethyl)-benzyltributylammonium chloride; BTAB, 4,4'-bis(tributylammoniummethyl) biphenyl; Distance between N^+ and N^+ are 7.07 Å (STX), 7.93 Å (TBTA), and 11.62 Å (BTAB), respectively, these values are calculated by using Chem Draw Ultra 9.0.

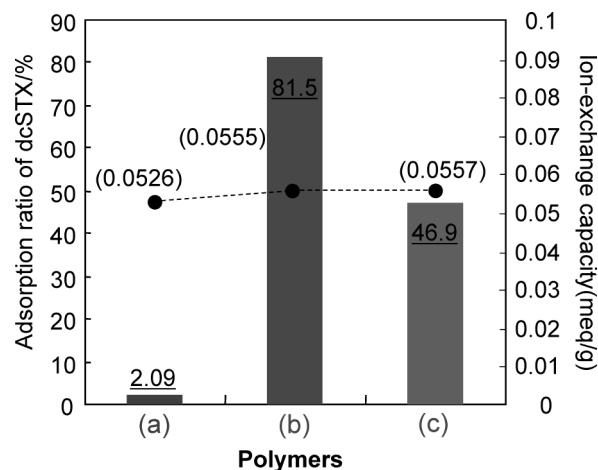


Fig. 12 Ion-exchange capacity and adsorption ratio of dcSTX after batch evaluation

The histograms denote the adsorption ratio and the dotted line represents the ion-exchange capacity. (a), BLANK polymer prepared without templates; (b), TBTA-P prepared with TBTA; (c), BTAB-P prepared with BTAB.

功した。そこで、この方法をより一般化するために、無機材料とのハイブリッド化についての検討を行った。光触媒として知られる酸化チタン表面に、上記と同じく dcSTX の選択的認識部位を導入することで、その効果を評価した。このときの合成の概念図は、Fig. 14 に示すとおりである

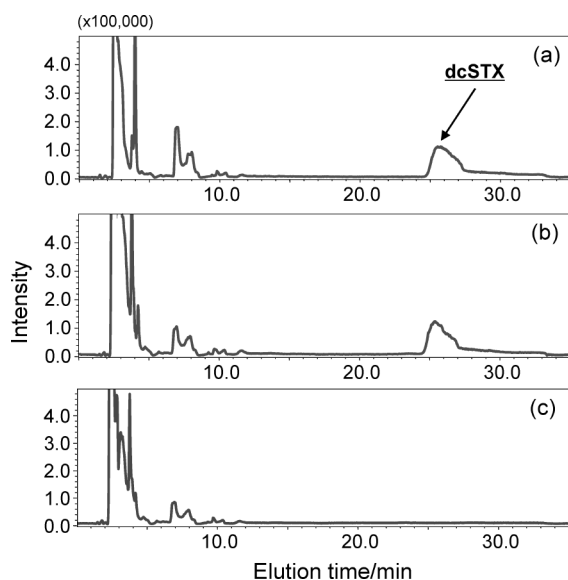


Fig. 13 Chromatograms of samples after solid-phase extraction

(a), Non-treated sample ; (b), fraction on BLANK polymer which was prepared without template ; (c), fraction on TBTA-P, detection using LC-MS : SIM-MS m/z 257 $[M+H]^+$.

が、酸化チタン表面の水酸基を利用して、認識部位を直接的に導入した。dcSTX 溶液中での選択的捕捉・光分解の結果について、Fig. 15 にまとめた。このプロットに示すとおり、未処理の酸化チタンと比較して、吸着速度が高く、なおかつそれが光分解にも反映されている。繰り返し実験の結果、未処理の酸化チタンでは、二回目以降の光分解能が大きく低下するのに対して、表面処理により認識能を導入したハイブリッド体では、性能低下なく繰り返し使用が可能であることが分かった²¹⁾。これは、未処理の酸化チタンでは、分解物が酸化チタン表面に堆積するのに対し、ハイブリッド体では、表面に導入された認識部位での吸着が起

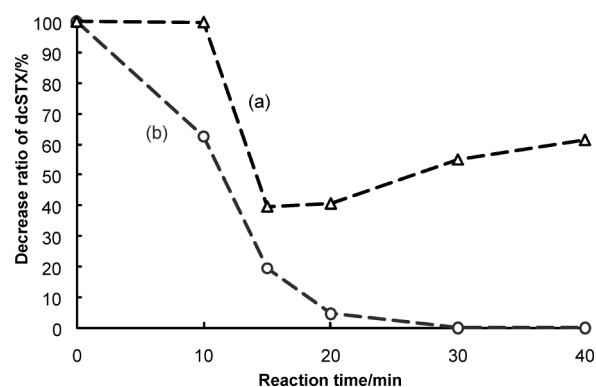


Fig. 15 Free dcSTX concentration on batch adsorption and UV irradiation with pseudo extracts (a), TiO_2 ; (b), TiO_2 modified with recognition sites. UV irradiation, 365 nm.

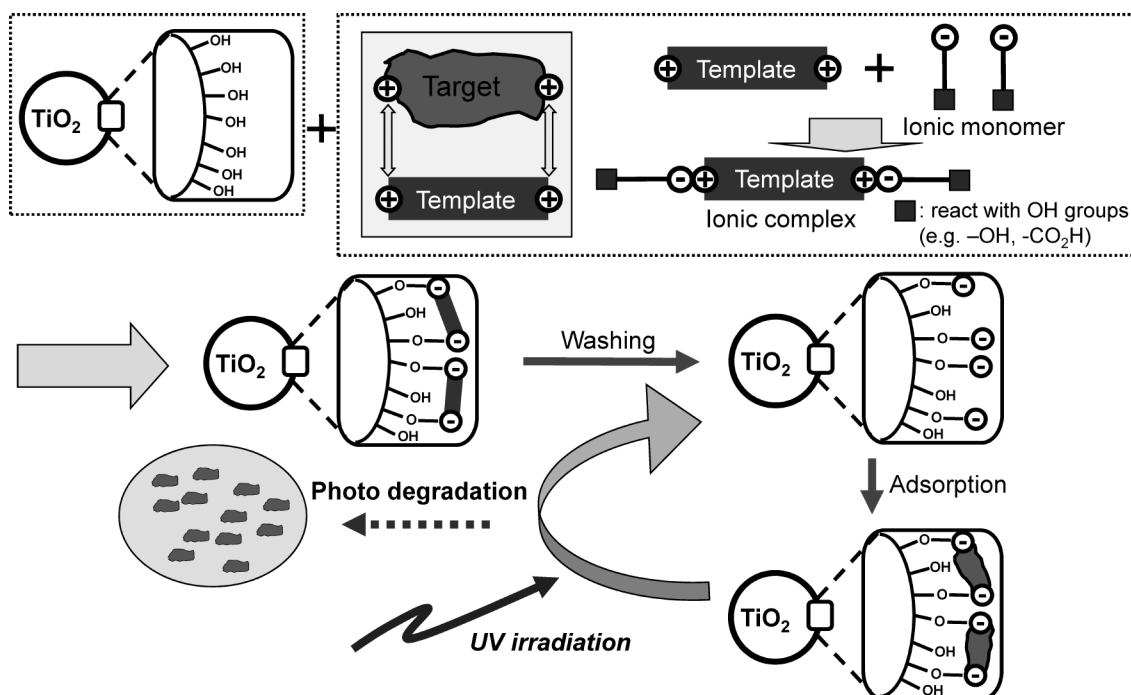


Fig. 14 Concept of hybrid photocatalyst enabling selective adsorption and photodegradation

こるため、分解物が堆積することなく、酸化チタンの光分解機能が継続的に効果を示すと予想される。

以上の結果から、著者らが提唱した官能基間距離固定化法は、分離剤として有効であることに加え、種々の無機材料とのハイブリッド化が可能であることが示された。今後、酸化チタンをはじめとする、機能性無機ナノ粒子とのハイブリッド化により、分子認識材料のさらなる応用研究への展開が期待できる。

7 おわりに

分子インプリント法は、数十年にわたり世界中で研究が進められてきた。比較的簡易な手法であるため、先進国のみならず、途上国においても同分野の研究が進められている。著者らの研究は、人工分子認識分野の拡充とともに、環境分析、無機材料とのハイブリッド化等の応用に結びつき、より高度な方法として、世界的にも認知されはじめている。今後、著者らの提唱した新しい分子インプリント技術によって、多岐にわたる分野での応用研究、実用研究が展開されると期待できる。

謝 辞

これまでの研究に際し御指導、御助言を頂きました、京都府立大学細矢憲教授、筑波大学彼谷邦光教授、京都工芸繊維大学田中信男教授に感謝いたします。

文 献

- 1) K. Haupt, K. Mosbach : *Chem. Rev.*, **100**, 2495 (2000).
- 2) M. J. Whitcombe, E. N. Vulfson : *Adv. Mater.*, **13**, 467 (2001).
- 3) G. Wulff : *Chem. Rev.*, **102**, 1 (2002).
- 4) A. Bossi, F. Bonini, A. P. F. Turner, S. A. Piletsky : *Biosens. Bioelectron.*, **22**, 1131 (2007).
- 5) F. G. Tamayo, E. Turiel, A. Martin-Esteban : *J. Chromatogr. A*, **1152**, 32 (2007).

- 6) M. J. Whitcombe, I. Chianella, L. Larcombe, S. A. Piletsky, J. Noble, R. Porter, A. Horgan : *Chem. Soc. Rev.*, **40**, 1547 (2011).
- 7) T. Kubo, K. Hosoya, Y. Watabe, T. Ikegami, N. Tanaka, T. Sano, K. Kaya : *J. Chromatogr. A*, **987**, 389 (2003).
- 8) T. Kubo, K. Hosoya, Y. Watabe, T. Ikegami, N. Tanaka, T. Sano, K. Kaya : *J. Chromatogr. A*, **1029**, 37 (2004).
- 9) T. Kubo, K. Hosoya, Y. Watabe, N. Tanaka, T. Sano, K. Kaya : *J. Environ. Sci. Health. Part A*, **39**, 2597 (2004).
- 10) T. Kubo, K. Hosoya, Y. Watabe, N. Tanaka, T. Sano, K. Kaya : *J. Sep. Sci.*, **27**, 316 (2004).
- 11) T. Kubo, K. Hosoya, Y. Watabe, N. Tanaka, H. Takagi, T. Sano, K. Kaya : *J. Chromatogr. B*, **806**, 229 (2004).
- 12) T. Kubo, N. Tanaka, K. Hosoya : *Anal. Bioanal. Chem.*, **378**, 94 (2004).
- 13) T. Kubo, K. Hosoya, M. Nomachi, N. Tanaka, K. Kaya : *Anal. Bioanal. Chem.*, **382**, 1698 (2005).
- 14) T. Kubo, K. Hosoya, T. Sano, M. Nomachi, N. Tanaka, K. Kaya : *Anal. Chim. Acta*, **549**, 45 (2005).
- 15) T. Kubo, M. Nomachi, K. Nemoto, T. Sano, K. Hosoya, N. Tanaka, K. Kaya : *Anal. Chim. Acta*, **577**, 1 (2006).
- 16) T. Kubo, N. Kimura, K. Hosoya, K. Kaya : *J. Polym. Sci., Part A : Polym. Chem.*, **45**, 3811 (2007).
- 17) T. Kubo, H. Matsumoto, F. Shiraishi, M. Nomachi, K. Nemoto, K. Hosoya, K. Kaya : *Anal. Chim. Acta*, **589**, 180 (2007).
- 18) K. Nemoto, T. Kubo, M. Nomachi, T. Sano, T. Matsumoto, K. Hosoya, T. Hattori, K. Kaya : *J. Am. Chem. Soc.*, **129**, 13626 (2007).
- 19) T. Kubo, Y. Tominaga, F. Watanabe, K. Kaya, K. Hosoya : *Anal. Sci.*, **24**, 1633 (2008).
- 20) Y. Tominaga, T. Kubo, K. Kaya, K. Hosoya : *Macromolecules*, **42**, 2911 (2009).
- 21) Y. Tominaga, T. Kubo, K. Hosoya : *Catal. Commun.*, **12**, 785 (2011).
- 22) S. Kitamura, T. Suzuki, S. Sanoh, R. Kohta, N. Jinno, K. Sugihara, S. Yoshihara, N. Fujimoto, H. Watanabe, S. Ohta : *Toxicol. Sci.*, **84**, 249 (2005).

Development of Application Techniques Based on Molecular Imprinting for Molecular Selective Pretreatments

Takuya KUBO^{1,2}

E-mail : kubo@anchem.mc.kyoto-u.ac.jp

¹ Graduate School of Environmental Studies, Tohoku University, 6-6-20, Aoba, Aramaki, Aoba-ku, Sendai-shi, Miyagi 980-8579

² Present address, Graduate School of Engineering, Kyoto University, Katsura, Nishikyo-ku, Kyoto-shi, Kyoto 615-8510

(Received December 30, 2011 ; Accepted February 4, 2012)

The application techniques based on the molecular imprinting for selective molecular recognition were developed, and we evaluated newly developed separation media concerning its fundamental retention properties and the possibilities as pretreatment media of environmental pollutants. Selective separation and/or concentration of environmental pollutants such as endocrine disrupters, halogenated aromatic compounds, and water-soluble natural toxins was achieved by newly proposed techniques, the fragment imprinting and the interval immobilization technique. Furthermore, the selective adsorption and photo degradation of natural toxin in environmental water was demonstrated by the hybrid material of titanium oxide nano particles modified with interval immobilized recognition site.

Keywords : molecular imprinting ; selective recognition ; environmental pollutants ; pretreatment.