

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和元年6月8日現在

機関番号：12614

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K00610

研究課題名(和文) 金属塩および酵素反応を用いた一液型タンニン複合化天然系凝集剤の創出

研究課題名(英文) Preparation of one-step type tannin-conjugated natural flocculant by using metal salt and enzyme

研究代表者

榎 牧子 (Enoki, Makiko)

東京海洋大学・学術研究院・准教授

研究者番号：90342758

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：海藻凝集剤と植物凝集剤は助剤を必要とする二液型の凝集剤であり、その性能は合成系高分子凝集剤に比べて劣るものである。本研究では、酵素によるタンニンの複合化反応、または金属塩を用いて、海藻凝集剤および植物凝集剤を一液型とすること、および、タンパク質吸着能の付与などの高性能化を目指した。

金属塩の試験ではマグネシウム塩とカルシウム塩について検討し、いずれの場合も一液型化が可能であったが、比較的低濃度のカルシウム塩を所定の方法で加えることで、海藻の凝集作用成分であるアルギン酸を効果的に一液型とすることができた。また、得られる一液型凝集剤は高い凝集性能を示すことがわかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

凝集剤は污水处理に欠かせない薬剤であるが、本研究の成果によって、カルシウムイオンの混合方法を工夫することで、海藻成分であるアルギン酸から一液型の高性能な凝集剤が得られることがわかった。この成果を海藻や陸上植物に応用することで、無毒で環境調和型の天然系凝集剤の実用性を高めることができる。このことは、有害性が懸念される無機系・合成高分子系凝集剤の代替物を与えることにつながり、安全で安心な水供給の実現に大きく貢献すると考えられる。

研究成果の概要(英文)：The algal and plant flocculants are two-step type flocculants which requires coagulant. In addition, their flocculation ability is lower than synthetic polymer flocculants. The aim of this study is to obtain one-step type algal and plant flocculant and to improve their flocculation ability by complexation reaction of tannin with enzyme and/or mixing metal salt.

As metal salts, magnesium and calcium salts were used, both of which gave one-step type flocculant. Relatively low concentration of calcium salt revealed to yield high functional one-step type flocculant with alginic acid which was active ingredient of algae.

研究分野：高分子化学

キーワード：天然凝集剤 アルギン酸

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

凝集剤は懸濁した水溶液を固液分離によって浄化する薬剤であり、浚渫工事、各種工場の排水処理や下水汚泥の脱水等で用いられる。一般には合成高分子凝集剤またはポリ塩化アルミニウム(PAC)が使用されているが、それらは浄化水への一部混入と放流を介した水圏環境域の汚染、大量に発生する凝集物の焼却処分が問題となっている。

これに対し、環境調和型凝集剤としてキトサン、ポリグルタミン酸、アルギン酸ナトリウムなどの天然系凝集剤が市販されているが、原料賦存量に起因する供給量の限界に加え、高価であり、性能が劣るという事実から、汎用用途には使用されていない。

申請者はこれまでに、海藻や各種植物を用い、それらの凝集作用成分(アルギン酸またはペクチン)の分離精製を行わずに凝集剤を得るための研究を行い、抽出された凝集作用成分よりも高い凝集効果を示す凝集剤を得る調製条件を見いだしてきた。しかし、凝集力は合成品におよばず、助剤としてカルシウムイオンなどの多価カチオンを要するために(二液型)、使用方法が煩雑であるといった課題を残していた。

2. 研究の目的

1) 海藻・植物凝集剤の一液型化

本研究では上述の背景をうけて、植物または海藻凝集剤を、タンニン複合化や酵素処理によって高性能な一液型凝集剤とすることを目的とした。その意図は、タンパク質および微生物凝集作用の付与、植物多糖との複合体化による凝集剤中アルギン酸またはペクチンの見かけの分子サイズ増大である。また、環境調和性を保持しながら、使用方法を簡易化するために、天然凝集剤の一液型化を目的とした。

また、これらを実現するために、海藻中の凝集作用成分であるアルギン酸標品を用いた試験を行うこととした。

3. 研究の方法

<H28年度>

1) アルギン酸と塩化マグネシウムを用いた一液型凝集剤の調製試験

本試験では、褐藻類由来のアルギン酸を主原料とし、一液型凝集剤の調製を試みた。

・試料：凝集剤モデルとして試薬グレードの標品アルギン酸を使用した。金属塩には、毒性がなく、最終的な凝集物を家畜飼料や土壌改良剤に使用する際に問題を生じさせず、かつゲル化能の低いものとして、マグネシウム塩を用いた。さらに、ゲル化能を付与する目的で塩化カルシウムを用いた。

・試料調製と性能評価：アルギン酸水溶液と塩化マグネシウムを混合した後に塩化カルシウムを添加し、一液型凝集剤とした。得られた一液型凝集剤について、カオリン懸濁液を用いた凝集試験を行った。評価基準は、各成分の添加量に対するカオリン懸濁液上清の濁度とした。

・パラメーター：塩化マグネシウムおよび塩化カルシウムの濃度と混合比を変化させ、得られる一液型凝集剤の性能を比較した。

2) 海藻凝集剤を用いた試験 ~ 調製条件の最適化

海藻凝集剤の原料としてホンダワラ用い、その乾燥粉末を希塩酸で洗浄後、炭酸ナトリウムを加えて凝集剤とした。塩酸濃度、炭酸ナトリウム濃度、および浸漬時間を変化させ、得られる凝集剤を凝集試験に供した。500ppmのカオリン懸濁液を対象濁水として凝集試験を行い、試験後に発生する上澄み液の濁度から凝集性能を評価した。

3) タンニン複合化試験

タンニン含有原料としてのコーヒー滓および柿の乾燥粉末を使用し、それらを個別に希塩酸洗浄した後、炭酸ナトリウムに浸漬し、これを前処理粉末とした。硫酸重合試験では、前処理粉末に硫酸を加えて静置した後、純水で粉末を洗浄し、再度、炭酸ナトリウムを加えて凝集剤とした。酵素重合試験では、前処理粉末を水溶液中にて、西洋わさびペルオキシダーゼと過酸化水素を用いて処理し、得られる混合液から凝集剤を回収した。

凝集性能の評価は、前年度と同様の手法にて行った。

<H29 年度>

1) タンニン前処理条件の検討

前年度に採用した前処理条件のうち、アルカリ浸漬時の pH と希塩酸洗浄の有無について、凝集性能を指標として最適条件を検討した。

また、それらの処理条件を変化させた場合の残存ウロン酸（ペクチン）残量を測定し、ウロン酸含量と凝集性能との相関を解析した。

2) 酵素処理条件の検討

西洋わさびペルオキシダーゼ（HRP）を用いたタンニン含有材料（前処理した柿粉末）の重合において、HRP の 1 回あたりの投入量、投入回数、および処理時間について検討した。処理後試料の色、および凝集性能を観察して指標とした。

3) 柿凝集剤によるとタンパク質吸着試験

本項において柿凝集剤とは、H29 年-1)において最適と判断した条件で得られる前処理粉末を指す。タンパク質モデルとして水溶性ポリペプトンまたは小麦粉を使用し、これらの凝集試験を行った。凝集試験後、上澄み液の COD を測定し、タンパク質除去率を求めた。また、同試験を、カオリンを同時に含む懸濁液を対象液として行った。これらにより、柿凝集剤によるタンパク質吸着（除去）性能を評価した。

<H30 年度>

アルギン酸と塩化カルシウムを用いた一液型凝集剤の調製

カチオンイオンをロードしたアルギン酸の微小なゲルを作成することができれば、一液型凝集剤として使用可能であると考え、以下の実験を行った。アルギン酸ナトリウム水溶液と炭酸カルシウムを混合し、温浴攪拌下で塩酸および塩化カルシウムを順次加え、得られる水溶液を一液型凝集剤とした。塩酸濃度 0.2~5.0M、塩酸添加量 1.2~2×0.001 モル、塩化カルシウム 100~800ppm の条件で試験を行った。一液型凝集剤は調製後、速やかに撮影し、ゲルの発生具合を観察した。次いで、500ppm カオリン懸濁液を用いて凝集試験を行い、凝集物の様子を観察するとともに、上澄みの濁度を測定した。以上の試験により、塩酸の投入時濃度、最終投入量、および塩化カルシウム濃度が、ゲルの大きさと凝集性能（凝集物サイズと上澄み濁度）に及ぼす影響を解析した。

4. 研究成果

<H28 年度>

1) アルギン酸と塩化マグネシウムを用いた一液型凝集剤の調製試験

塩化マグネシウムを用いたアルギン酸凝集剤の一液型化では、0.1%のアルギン酸カリウム水溶液に、所定量の 20%塩化マグネシウム溶液を混合してから定容し、ここへ 3ml の 4%塩化カ

ルシウム水溶液を添加することで、一液型凝集剤を得られることがわかった。500 ppm カオリンを対象濁水とした場合、塩化マグネシウムの最終濃度が約 0.1%以上において凝集効果がみられ、上澄み液のカオリン濃度は 60 ppm 以下に到達した。

しかし、0.1%は対象濁水の濃度や一般的な高分子凝集剤の必要添加量を鑑みると極めて高濃度であり、実用的とはいえない。従って、本実験結果から、アルギン酸を弱い力で結合させたのちにカルシウムイオンを投じると一液型凝集剤を得ることができるという知見が得られたことを生かし、同様のメカニズムを他の材料に応用する必要があると考えられた。

2) 海藻凝集剤調製条件の最適化

海藻凝集剤調製条件の最適化では、0.6 M の塩酸で原料海藻を洗浄した後、pH9.6 程度になるまで炭酸ナトリウムを加えて 24 h 攪拌する条件が最も良好な凝集剤をあたえることがわかった。これにより、500 ppm のカオリンに対して凝集剤を最終濃度で 0.5 ppm 加えることにより、上澄み液のカオリン濃度を約 30 ppm まで減少させることができた。

3) タンニン複合化試験

タンニンを含む植物原料として柿皮を選択し、硫酸または西洋わさびペルオキシダーゼ(HRP)を用いてタンニンの重合を試みた。硫酸による重合では若干の凝集性能改善が確認された。しかし、HRP の場合には、重合はある程度進行するものの、凝集性能向上にはいたらなかった。

< H29 年度 >

1) タンニン前処理条件の検討

柿の前処理粉末調製の際のアルカリ浸漬時の pH を 8.5 ~ 11 の間で検討したところ、pH10.5 における処理にて最も凝集成績のよい試料が得られた。同時に、アルカリ処理時の pH が低すぎる場合には塩酸処理が必要であるものの、最適である場合には塩酸処理を行わなくても同等の凝集成績が得られ、塩酸処理は必要ないことがわかった。これらの結果および成分分析結果から、海藻に含まれるミネラル分を塩酸で除去すると、続くアルカリ処理においてペクチンが組織内部から溶出しやすくなること、ミネラル分の除去を経ずとも高濃度アルカリによってアルギン酸が溶出することが示唆された。処理条件は残差としての植物凝集剤に残存するペクチン量に大きく影響し、ペクチン含量の多い凝集剤ほど、凝集成績が良好であった。

2) 酵素処理の検討

タンニン複合化を目的として西洋わさびペルオキシダーゼ(HRP)を用いて柿の前処理物(柿凝集剤)を処理したところ、HRP の投入回数を多くするほど、柿凝集剤の色は濃くなり、黒に近くなった。このことから、HRP は一度に加えるよりも、数回に分けて加える方が反応を進行させることが示唆された。しかし、どの条件で作成した重合物においても、未処理の柿凝集剤より凝集性能が改善されるものはなく、処理条件が過剰であるほど、凝集効果は低下した。

3) 凝集試験およびタンパク質吸着試験

タンパク質モデルとして水溶性ポリペプトンを用いたところ、カオリン濁水では凝集効果がある場合にも上澄みの COD を下げる機能は柿皮凝集剤では観察されなかった。一方、タンパク質モデルとして小麦粉を用いた場合には、小麦粉 1000 ppm を含む懸濁液において、柿皮凝集剤は 1.75 ppm の投入量で約 50% の COD 除去率を示した。

< H30 年度 >

海藻凝集剤の一液型を鑑み、海藻凝集剤中の凝集作用成分であるアルギン酸の一液型化にとりくんだ。H28 年度にはアルギン酸カリウムとマグネシウム塩を用いて一液型化にとりくんだ。

が、アルギン酸とマグネシウムイオンから生じるゲルは非常に弱く、マグネシウム塩を大量に入れて初めて凝集性能を発揮した。そこで H30 年度はアルギン酸ナトリウムとカルシウム塩を用いた。アルギン酸はカルシウムイオンによってゲル化し、凝集性能をもたなくなるが、アルギン酸分子鎖上にカルシウムイオンをよく分散させて水浮遊性の微小ゲルを作成することができれば、一液型凝集剤として作用すると考えた。このため、水不溶性の塩である炭酸カルシウムの粉末をアルギン酸に混合した後に塩酸を加え、アルギン酸上に分散したカルシウムをイオン化させた。ついで、カチオン性を高めるために、塩化カルシウムを添加した。

実験の結果、それらの手法により、カルシウムイオンをロードしたアルギン酸カルシウムの微細なゲルが一液型凝集剤として得られた。凝集剤作成時の塩酸添加量が 1.6 mmol 以上、塩化カルシウム 1.2% 以上の場合に、1 ppm 凝集剤による凝集試験時の上澄みの OD が 0.025 以下(600 nm における吸光度)となり、良好な凝集性能を発揮することがわかった。

試験条件の範囲において塩酸は濃度が濃いほど、添加量が高いほど凝集性能がよく、また、塩化カルシウム添加量が多いほど高い凝集性能が得られた。凝集効果が観察されない条件では凝集剤溶液中に目視で確認できる大きさのゲルが観察され、また、懸濁粒子の凝集は確認できなかった。一方、凝集効果が確認できた凝集剤溶液には大きなゲルは確認されず、微細ゲルを含む凝集剤が良好な凝集結果を示すことがわかった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 0 件)

〔学会発表〕(計 4 件)

- ・ パパイン修飾リジン処理ペクチンの NMR 構造解析、第 66 回高分子討論会、佐藤駿佑、榎牧子 (2017 年)
- ・ アルギン酸を用いた一液型天然凝集剤の開発、第 65 回高分子学会年次大会、休波 巧、佐藤 駿佑、榎 牧子 (2016 年)
- ・ 成分分離を伴わない植物ベース凝集剤の調製、第 65 回高分子学会年次大会、渡辺 兼樹、榎牧子 (2016 年)
- ・ リジン修飾ペクチンの凝集効果と電荷密度の決定、第 65 回高分子学会年次大会、佐藤駿佑、榎 牧子 (2016 年)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

取得状況 (計 0 件)

〔その他〕

特記事項無し

6 . 研究組織

(1)研究分担者

該当者なし

(2)研究協力者

該当者なし

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。