

平成 30 年 5 月 8 日現在

機関番号：10101

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15H04063

研究課題名(和文) グライコブロットィングを利用した多糖の選択的除去による膜ファウリングの効率的抑制

研究課題名(英文) Control of membrane fouling by specific removal of polysaccharides using glycoblotting

研究代表者

木村 克輝(Kimura, Katsuki)

北海道大学・工学研究院・准教授

研究者番号：10292054

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,600,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、生体内試料から糖鎖のみを選択的に回収するグライコブロットィングに着目し、膜処理において膜を閉塞させるバイオポリマーを効率的に除去できる前処理方法の確立を試みた。常温下ではグライコブロットィングによるバイオポリマーの除去は限定的であったが、アニリンなどの触媒あるいは酸化剤の併用により常温下でもバイオポリマーの除去が可能となった。バイオポリマーにはグライコブロットィングにより除去しやすいものとにくいものが混在していることが分かり、バイオポリマーの細分類が必要となった。バイオポリマーの分析法として国際標準となっている方法を改良し、バイオポリマーを細分類して分析することに成功した。

研究成果の概要(英文)：Biopolymers, defined as hydrophilic organic macromolecules in natural water, have been identified as major players in membrane fouling. In this study, glycoblotting, which was developed to specifically capture oligosaccharides in the field of medical science, was applied for establishing a new pre-pretreatment for membrane processes in water treatment. Removal of biopolymers was limited under a normal temperature. However, use of catalysts such as aniline or oxidants enabled to remove biopolymers via glycoblotting under a normal temperature. It was suggested that biopolymers detected by the conventional method should be further fractionated to investigate membrane fouling caused by biopolymers. Modified liquid chromatography with organic carbon detection (LC-OCD) analysis enabled the further fractionation of biopolymers.

研究分野：環境工学

キーワード：水処理 膜処理 バイオポリマー LC-OCD

## 1. 研究開始当初の背景

処理水質の大幅な向上、分散型の水処理などを可能にする MF・UF 膜処理（以下膜処理と記す）を浄水処理および下水処理に導入する機運はかつて高まったかに見えたが、未だに主流技術とはなり得ていない。しかしながら膜処理の市場は拡大を続けており、膜処理のイニシャルコストは既存技術にかなり接近している。膜透過性能の経時的劣化（膜ファウリング）に伴うランニングコストの高さが膜処理の本格的普及を阻む主要原因となっている。膜ファウリング制御の重要性については広く認識されており、これまでに非常に多くの研究例がある。初期の膜ファウリング研究においては、浄水膜では自然水中で最も普遍的に存在する溶解性有機物であるフミン質が、MBR 膜では高濃度で系内に保持する活性汚泥フロックが、それぞれ主たる膜ファウリング成分であると考えられてきた。この 10 年で、膜ファウリングの主原因物質に対する認識は大きく変化している。多糖類の膜ファウリングへの重大な関与が、浄水膜の場合も MBR 膜の場合も指摘されるようになってきている。多糖類が大きな膜ファウリングポテンシャルを有している理由について完全に明らかになっているわけではないが、浄水処理・下水処理で多用される MF 膜・UF 膜の膜細孔径と多糖類のサイズが近いこと、多糖類に多く含まれる水酸基と膜ポリマーとの間に発生する水素結合が膜ファウリングの発生を促進することなどが考えられている。

膜ファウリング研究における有機物分析方法として、実質的な国際標準分析方法となっているのは有機炭素検出器を装着した液体クロマトグラフィー（liquid chromatography with organic carbon detector, LC-OCD）である。LC-OCD 分析において多糖類は、1 万ダルトン以上の分子量を有する親水性高分子量有機物である「バイオポリマー」として検出される。多くの場合、バイオポリマーの主成分は多糖類である。原水中バイオポリマー濃度と膜ファウリング発生度との高い関連性が数多く報告されているところである。バイオポリマーを効率的に除去する前処理技術の確立が膜ファウリング発生抑制のために待望されている。凝集や活性炭吸着のような一般的な前処理では、バイオポリマー以外の有機物成分も同時に除去する結果、バイオポリマーの除去が非効率的になってしまう。バイオポリマーの除去に特化した前処理方法を開発できれば、膜ファウリングの発生を効率的に抑制できる可能性がある。

## 2. 研究の目的

本研究では、血清などの生体内試料から糖鎖のみを選択的に回収するグライコプロッ

ティングに着目した。ヘミアセタール構造を有する糖鎖は、水溶液中において環状・鎖状構造の平衡状態にあり（図 1）、鎖状構造においてアルデヒド基を含む。グライコプロッティングでは、生体内でアルデヒド基を含む分子は糖だけであることに着目し、このアルデヒド基と結合するアミノオキシ基を用いて糖鎖のみを選択的に回収する。糖鎖の回収にグライコプロッティングを用いる場合、反応速度を上げるために高温で反応させるのが通例であるが、水処理への適用を考える際には常温で反応させることが必須となる。しかしながら常温でのグライコプロッティングの検討や非常に大きな分子量を有するバイオポリマーをグライコプロッティングで除去できるか否かは検討例がなく全くの未知である。本研究では、水処理システムへの適用を目指し、グライコプロッティングによるバイオポリマーの除去を試みた。

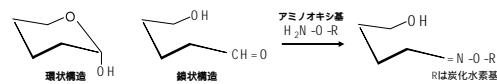


図 1 糖のアルデヒド基とアミノオキシ基の反応図

## 3. 研究の方法

本実験では、糖鎖精製用に市販されている糖鎖捕捉用ポリマービーズ BlotGlyco®(住友ベークライト)を用いた。BlotGlyco®ビーズは、表面に約  $2 \mu\text{mol}/\text{mg}$  のアミノオキシ基が付加されており、容易に固液分離できる。モデル糖としてのマルトトリオース溶液の他に、バイオポリマーを含む MBR 汚泥上澄み成分、水道水源に用いられている千歳川水を用いて実験を行い、グライコプロッティングの有用性を評価した。アミノオキシ基とアルデヒド基の反応には、pH を酸性側 (pH4.5) に設定することで反応効率が向上することが報告されている。試料と BlotGlyco®ビーズを混合後、常温 (23 ) 実験では恒温槽で振とうさせ、高温 (80 ) 実験ではヒートブロックで加熱した。BlotGlyco®ビーズを除去後、マルトトリオース濃度は、TOC 計・フェノール硫酸法で測定し、バイオポリマー濃度は LC-OCD (DOC-labor) で測定した。

## 4. 研究成果

図 2 に高温で反応させた際の、マルトトリオース・MBR 汚泥上澄み成分中バイオポリマー除去率を示す。80 では BlotGlyco®ビーズの注入量の増加に伴い、モデル糖のマルトトリオースの除去率が上昇した。MBR 汚泥上澄み成分中バイオポリマーについては 80 において約 30% 程度除去されることを確認した。

図3に常温条件下でのマルトトリオース除去率を示す。常温では、反応時間あるいはBlotGlyco®ビーズの注入量を増加させてもモデル糖のマルトトリオースの除去率は約

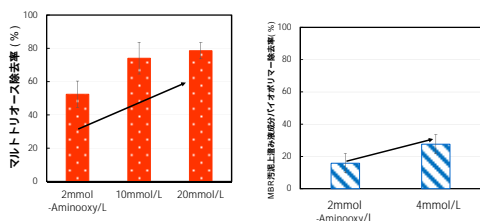


図2 高温反応でのマルトトリオース除去率 (左) MBR 汚泥上澄み成分中バイオポリマー除去率 (右)

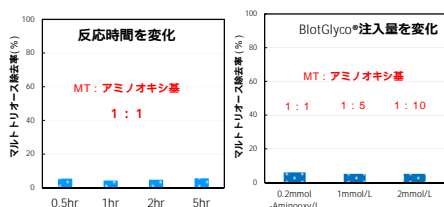


図3 常温反応でのマルトトリオース除去率 (左) 反応時間を変化、(右) BlotGlyco®注入量を変化

5%程度に留まり、常温でのグライコプロットングを用いた糖類の除去は極めて難しいことが示された。

80 で糖類の除去率が上昇したのは、反応速度の上昇に起因するものと考えられた。そこで触媒を用いて反応速度を上昇させ、常温でのグライコプロットングによる糖類除去を試みた。本研究では、触媒としてアニリンと5-メチルアントラニル酸(以下5MA)を使用した。本実験では、触媒の注入量を、マルトトリオース濃度に対し100倍量に設定した。図4に触媒を用いた際の常温でのマルトトリオース除去率を示す。触媒を用いることで、反応時間数時間で常温においても最大約40%のマルトトリオース除去が達成された。

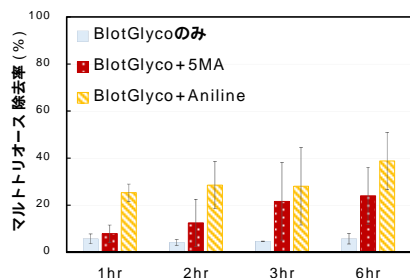


図4 触媒を用いた際の常温反応でのマルトトリオース除去率

常温における実際のバイオポリマー除去実験として、MBR 汚泥上澄み成分と千歳川水を対象とした実験を行った。BlotGlyco®ビーズの注入量については、両対象水のバイオポリマー濃度をグルコース換算した濃度に対して等モル量、2倍量とした。触媒は5MAを用い、注入量は100倍量に設定した。図5に常温条件下でのグライコプロットングによるMBR 汚泥上澄み成分中バイオポリマー除去率を示す。BlotGlyco®ビーズの注入量の増加に伴ってバイオポリマー除去率が上昇した。触媒の添加により、除去率は上昇した。

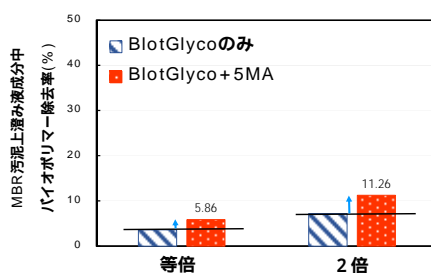


図5 5MA を触媒に用いた常温条件下での MBR 汚泥上澄み成分中バイオポリマー除去率

糖類に対するアミノオキシ基量を上げることで、さらに除去率を上昇させられる可能性がある。

図6に常温条件下での千歳川中バイオポリマー除去率を示す。千歳川水を対象とした実験では触媒の添加を行っても除去率は5%程度に留まった。千歳川バイオポリマーが除去できなかった原因として、千歳川中バイオポリマーの「末端」に糖鎖が少なく、アミノオキシ基と結合できるアルデヒド基が存在しなかったことなどが考えられる。

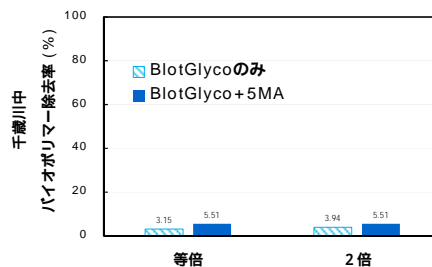


図6 5MA を触媒に用いた常温条件下での千歳川中バイオポリマー除去率

ジオール構造を持つ糖類は、適当な酸化剤を用いることで酸化的開裂反応を起こし、アルデヒド基を生成することが分かっている。千歳川中バイオポリマー内にジオール構造を持つ糖が存在すれば、アルデヒド基を生成する酸化処理を併用することでグライコ

ロッキングにより除去できると考えた。本実験では、浄水処理におけるマンガン除去において使用例がある過マンガン酸カリウムを酸化剤として用い、グライコプロッキングと組み合わせることを考えた。過マンガン酸カリウム注入量を 0.4~2 mg/L、酸化処理時間を 1 時間に設定した。酸化処理後のグライコプロッキング処理条件としては、千歳川中バイオポリマーをグルコースに換算した濃度に対し、BlotGlyco®ビーズを 200 倍、5MA を 100 倍量に設定した。図 7 に過マンガン酸カリウムによる酸化前処理を行った際の千歳川中バイオポリマー除去率を示す。酸化処理によるバイオポリマー減少が観察されたが、酸化処理を加えていない系と比較すると酸化処理を併用してグライコプロッキング処理することにより最大で約 40%以上のバイオポリマーを除去できるようになった。過マンガン酸カリウム等の酸化処理とグライコプロッキングを併用することで広範囲のバイオポリマーを除去できる可能性が示された。

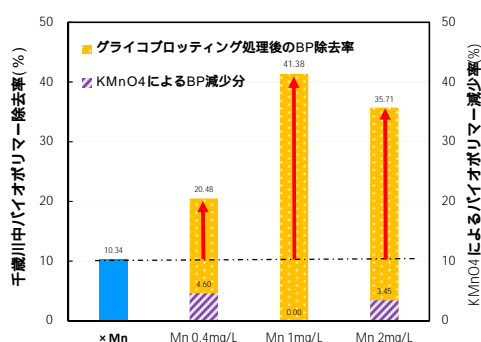


図 7 KMnO4 による酸化前処理を行った際の千歳川中バイオポリマー除去率

上述したように、本研究で開発した水処理材により良好な除去が見込めるバイオポリマーと除去が見込めないバイオポリマーの混在が示唆された。通常の LC-OCD 分析では分子量 1 万ダルトン以上の成分がバイオポリマー画分として一括検出され、これらのバイオポリマーを分離して検討できない。これらのバイオポリマーをさらに細分化し、それぞれの特性を検討することが必要である。本研究では LC-OCD 分析の改良 (HW-50S カラムと HW-65S カラムの連結) を行い、バイオポリマーを従来法よりも広い範囲で分離できるようになった。図 8 に改良 LC-OCD 報によるバイオポリマーの分析結果例を示す。従来の LC-OCD 分析では分子量 1 万ダルトン以上として一括検出されていたバイオポリマーが、分子量百万ダルトン以上から 1 万ダルトン付近までの非常に幅広い分子量成分から構成されていることが確認された。千歳川表流水を対象とした継続的試料採取と膜ろ過実験に

より、分子量百万ダルトンを超える超高分子量バイオポリマーが MF 膜における膜ファウリング発生に重要な働きをしていることが示された。超高分子量バイオポリマー濃度は、全有機炭素濃度・フミン質濃度・全バイオポリマー濃度と比較して、膜ファウリング発生度とのより強い相関があった。超高分子量バイオポリマー濃度は有効なファウリング発生予測指標となる可能性が高く、新水処理材による除去性の検討も超高分子量バイオポリマー濃度に着目して行うべきである。

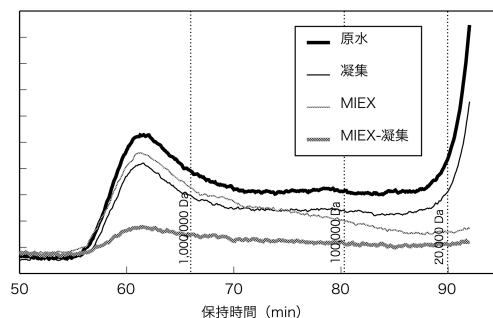


図 8 改良 LC-OCD 分析によるバイオポリマーの分画 (試料: 千歳川表流水、原水・凝集処理水・MIEX 処理水・MIEX-凝集処理水について測定)

## 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)

Katsuki Kimura, Koki Shikato, Yasumitsu Oki, Keita Hume, Stefan A. Huber, Surface water biopolymer fractionation for fouling mitigation in low-pressure membranes. Journal of Membrane Science, 554, 83-89, 2018.

DOI: 10.1016/j.memsci.2018.02.024

Katsuki Kimura, Yasumitsu Oki Efficient control of membrane fouling in MF by removal of biopolymers: Comparison of various pretreatments, Water Research, 115, 172-179, 2017.

DOI: 10.1016/j.watres.2017.02.033

(学会発表)(計 6 件)

塩野孝人、木村克輝: グライコプロッキングを利用したバイオポリマーの選択的除去、第 50 回日本水環境学会年会

大木康充、鹿戸皇希、木村克輝: MIEX-凝集処理における高分子バイオポリマー除去機構の解明、第 50 回日本水環境学会年会

鹿戸皇希、大木康充、木村克輝: 表流水

中バイオポリマーのキャラクタリゼーション、第50回日本水環境学会年会  
Katsuki Kimura, Yasumitsu Oki, Further fractionation of the biopolymer fraction in NOM for better control of fouling in low-pressure membranes, Particle Separation 2016 Advances in particle science and separation: meeting tomorrow's challenges  
木村克輝、大木康充: 表流水中バイオポリマー成分のサイズと MF/UF 膜細孔径の関係が 膜ファウリングの発生に及ぼす影響、第53回環境工学研究フォーラム  
久米啓太、鹿戸皇希、木村克輝: UF 膜の適用による高分子量バイオポリマーが引き起こす膜ファウリングの抑制、第51回日本水環境学会年会

〔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〕

ホームページ等

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

木村 克輝 (KIMURA, Katsuki)  
北海道大学大学院・工学研究院・准教授  
研究者番号: 10292054

### (2) 研究分担者

西村 紳一郎 (NISHIMURA, Shin-ichiro)  
北海道大学大学院・先端生命科学研究院・教授  
研究者番号: 00183898

山村 寛 (YAMAMURA, Hiroshi)  
中央大学・理工学部・准教授  
研究者番号: 40515334