

環境試料中の微量金属の分離濃縮に関する研究(その3)

南澤 宏明(教養・基礎科学系)

1. はじめに

マイクロカプセルは感圧複写紙から服用薬までさまざまな分野で利用されている。マイクロカプセルを形成するゲル素材の1つにアルギン酸がある。アルギン酸ナトリウム溶液を塩化カルシウム溶液に滴下すると、膜を形成して球状ゲル(マイクロカプセル)が生成する。この現象を利用したものが人工イクラである。この原理を利用すれば、あらかじめアルギン酸ナトリウム溶液に金属と錯体を生成するような錯生成試薬を導入し、この溶液を塩化カルシウム溶液に滴下させることで、新たな機能を持ったアルギン酸ビーズ(マイクロカプセル)をつくることができる。

過去の研究において、上記のアルギン酸ビーズに未利用資源の有効利用という視点から、金属吸着能を有する粘土や天然ゼオライトなどの無機系未利用資源を含有した新規な複合体を製造し、その吸着能について検討がなされた。その結果、粘土は金属吸着能を有するものの粒子が細かいために分離操作に難点があったが、得られた複合体は何も含まないアルギン酸ビーズよりも高い吸着能と粘土よりも操作性に優れたものであった。同様の検討をビール粕やコーヒー粕などの植物系廃棄物についても検討を行い、良好な結果を得ている。しかしながら、これら固体である未利用資源を用いて得られた複合体は強度の点で問題があり、種々の実験の中ではキトサンとアルギン酸の複合体が最も優れた金属吸着能と強度を有する結果を示した。

本研究では、アルギン酸ビーズへのアミノ酸の導入について検討する。人の毛髪が人体に入り込んだ有害金属を排泄する器官の役割を担っていることはあまり知られていない。毛髪は米国環境保護庁(EPA/Environmental Protection Agency)が生体の有害金属(ミネラル)汚染度測定に有効な組織細胞と認め、広く検体として利用されている。³⁾かつてカドミウムによる「イタイイタイ病」、水銀による「水俣病」などの分析にも用いられた。その毛髪の構成成分は主にケラチンというタンパク質であり、ケラチンにはシスチン、メチオニン、

システインという含硫アミノ酸が多く含まれている。このことはシスチン、メチオニン、システインに金属の吸着機構が備わっていることを示唆している。しかしながら、アミノ酸の多くは両性イオンとして存在して水に溶解するため、このままでは取り扱いが困難である。そこで、内包物質を外部環境から保護出来るアルギン酸由来のマイクロカプセルを利用して複合体を形成することで、新規な金属の固相吸着体の製造が期待できる。

2. 実験

2. 1 試薬

Fe 溶液：和光純薬工業製試薬特級塩化鉄(FeCl₃)を溶解して1000 µg/mlとし、適宜希釈して使用した。

システイン：和光純薬工業製 L-システインを使用した。

アルギン酸ナトリウム：和光純薬工業製 一級試薬 アルギン酸ナトリウムを適宜純水(または酢酸)で溶解し、アルギン酸ナトリウム溶液として使用した。

塩化カルシウム：和光純薬工業製 特級試薬 塩化カルシウム(粒状)を適宜純水で溶解し、塩化カルシウム溶液を調製し使用した。

その他の試薬はすべて試薬特級または精密分析用を使用した。

なお、研究で用いた水は、オルガノ株式会社製 PURIC-MX II 超純水装置により精製した純水を用いた。

2. 2 装置

ICP 発光分光分析装置：エスアイアイ・ナノテクノロジー株式会社製 誘導結合プラズマ発光分光分析装置 SPS3100 型を使用した。

電子顕微鏡：日本電子製 走査型電子顕微鏡(SEM) JSM-5800LV を使用し、システインビーズの表面の観察を行った。

赤外吸収分析装置：Bio-Rad Laboratories 製フーリエ変換赤外分光装置(FT-IR) FTS-60A 型を用いて、KBr 法により、システインビーズ表面の観察を行った。主な測定条件は、測定定数(波長)領域：4000-400cm⁻¹(2.0-25µm)、分解能：

8cm⁻¹(1250μm), 積算回数: 64 回である.

pH メーター: 日立-堀場製 M-8L 型を使用した.

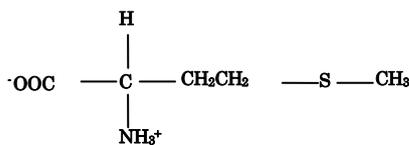
攪拌機: 岩城硝子製 TM-152 型を使用した.

超音波洗浄器: アズワン製 超音波洗浄器を使用した.

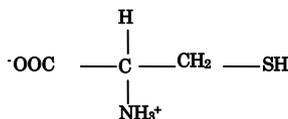
2. 3 マイクロカプセルの作成

毛髪の成分である 3 種のアミノ酸(メチオニン, システイン, シスチン) を固定化した 1%(W/V) アミノ酸含有アルギン酸ビーズを下記のように作成した.

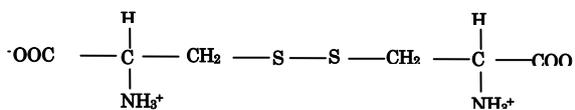
ビーカーに純水 50ml を入れてアミノ酸 0.5 g を溶解させた後, アルギン酸ナトリウム 1.0 g を溶解させた. キャピラリーを用いて 0.5%塩化カルシウムに滴下してアルギン酸マイクロカプセルを作成した. ビーズ同士がくっつくのを防ぐために純水で洗浄し, 60°C で 24 時間乾燥させることによって 1%(W/V)アミノ酸含有アルギン酸ビーズを完成させた.



methionione(メチオニン)



cystein(システイン)

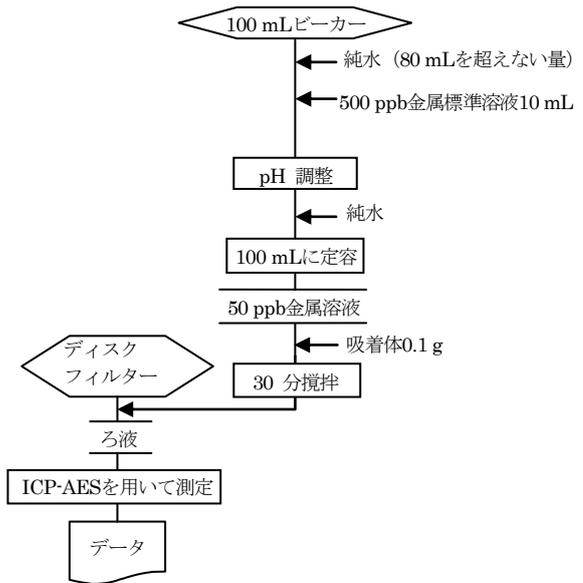


cystine(シスチン)

2. 4 各種ビーズへの金属イオンの吸着操作

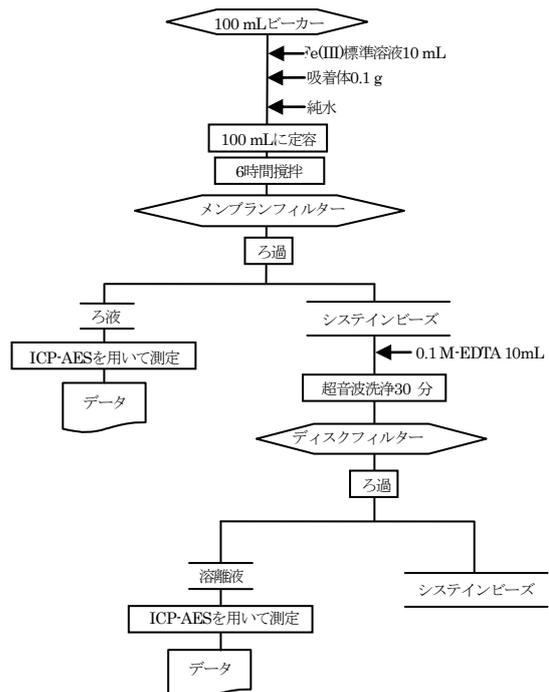
金属イオンの吸着実験を行った.

純水に 500 ppb に調製した各金属標準溶液 10 mL を加え, dil.NaOH または dil.HNO₃ 水溶液を用いて試料溶液の pH 調整した後, 100 mL に定容した. ビーズ 0.1 g を上記の溶液に加え, 30 分間攪拌した後, ディスクフィルターでろ過した. ろ液を ICP-AES を用いて測定し, その残存濃度から吸着率を求めた.



2. 5 システインビーズの溶離操作

システインビーズに吸着した Fe の溶離実験を行った. 100 ml ビーカーに 10 ppb または 50 ppb に調製した Fe 溶液を入れ, システインビーズを 0.1 g 量りとり 6 時間攪拌した. メンブランフィルターでろ過した後, ろ液は ICP-AES を用いて測定し, その残存濃度からシステインビーズへの吸着量(μg)を求めた. 吸着後のシステインビーズは 0.1 M-EDTA 10ml を用いて, 超音波洗浄機で 30 分振動させて Fe を溶離した. ろ過後の溶離液を ICP-AES を用いて測定し, 10 倍濃縮の濃度から溶離量(μg)と溶離率を求めた.



3. 結果および考察

3.1 吸着剤の金属イオンに対する吸着能の評価と目的金属の選択

3 種のアミノ酸含有アルギン酸ビーズの金属イオン吸着結果は図のようになった。アルギン酸自体も金属イオン吸着能を有するため、アルギン酸のみのビーズも測定した。金属イオン吸着を比較した結果、3 種のアミノ酸の中ではシステインビーズの吸着が良く、アルギン酸ビーズと比べてみても良い吸着を示していた。Feについては68.3%というまずまずの結果が得られた。

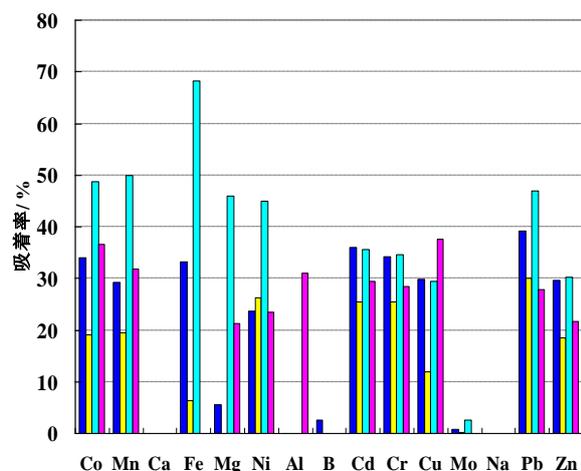


図 アミノ酸含有アルギン酸ビーズおよびアルギン酸ビーズの種々の金属イオンにおける吸着率の比較

3.2 システインビーズ調製における最適条件

3.2.1 システイン濃度の検討

EDTA のような錯生成試薬に比べてシステインの錯生成定数は低いことが予想される。そのため、システインビーズの調製において出来るだけ多くのシステインを含有させる必要がある。したがって、システイン濃度はシステインの水への溶解度が20℃において16g/100gであることから、システインの濃度を16%になるようにした。

3.2.2 アルギン酸濃度の検討

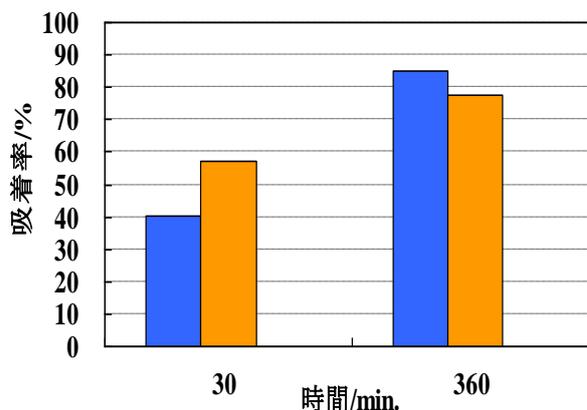
2%と3%のアルギン酸濃度のビーズを用いてFeを吸着させ、比較した。システインビーズは2%アルギン酸濃度で吸着率57.4%、3%アルギン酸濃度で吸着率40.7%となった。何も含まないアルギン酸ビーズでは濃度が増加すると吸着率も増加しているのに対し、システインビーズではアルギン酸濃度が増加すると吸着率は低下することがわかる。これは何も含まないアルギン酸ビーズ

の場合は、アルギン酸が増加するほど金属と錯生成する官能基が増えるためであると考えられるが、システインビーズの場合、濃いアルギン酸濃度では、システインの金属イオンと錯生成する官能基を抑えこんでしまうため吸着率が低下したものと考える。このことから、システインビーズの調製にあたりアルギン酸濃度は2%が良好であった。

3.3 最適調製条件におけるシステインビーズのFeの吸着

最適調製条件で作製したシステインビーズにおけるFeの吸着実験の結果を示す。

30分の吸着では吸着率57.4%、6時間の吸着では77.8%となった。30分の吸着ではアルギン酸ビーズよりもシステインビーズの吸着が良好だったが、6時間の吸着ではアルギン酸よりもシステインビーズの吸着がわずかに劣るという結果になった。これは長時間の吸着ではシステインがビーズから溶出してしまい、アルギン酸のみの吸着となったためであると考えられる。これはすなわち、100%の吸着に至らなかった原因でもある。

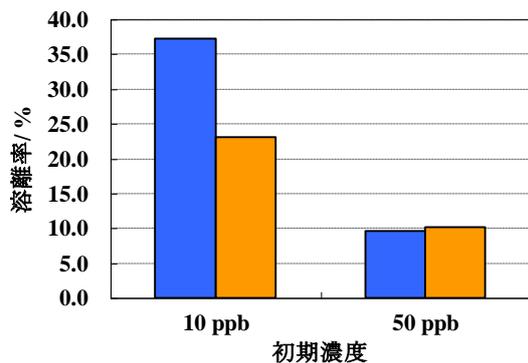


3.4 システインビーズからのFeの溶離

吸着時間6時間におけるシステインビーズからのFeの溶離結果を示す。システインビーズの初期濃度10ppbで吸着させた時の溶離率は23.1%、50ppbで吸着させた時の溶離率は10.2%となった。期待する結果が得られなかった理由の1つに吸着時間を6時間にしたことである。すでに述べたが、6時間の吸着ではシステインがビーズから溶出してしまいアルギン酸のみの吸着となると考えられ、溶離においても何も含まないアルギン酸以上にはならないと考えられる。

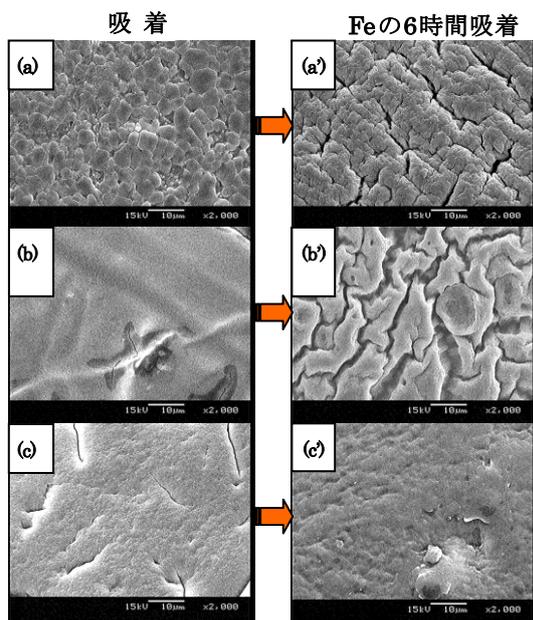
本研究では、溶離に関して6時間吸着に対する結果しか得られていないが、30分の吸着に対する溶離であればシステインの溶出は抑えられると

考えられ 30 分の吸着に対する溶離について今後検討する余地があると思われる



3・5 システインビーズの表面観察

6 時間の Fe の吸着実験の結果、システインビーズがどのように変化しているのかを表面を観察することにより考察した。下図に SEM 観察結果を示す。表面観察は 6 時間の Fe 吸着前後を比較するとともにアルギン酸ビーズ、システインビーズ、メルカプト酢酸添加システインビーズの比較も行った。



SEM 写真より、(a)のアルギン酸ビーズ表面は多数亀裂の入ったごつごつした様相をしているのに対し、(b)のシステインビーズや(c)のメルカプト酢酸添加システインビーズは滑らかな表面をしている。システインがアルギン酸と上手く架橋しているように見える。しかしながら 6 時間吸着させると、肉眼でも全てのビーズで大きさが小さくなっているのがわかり、ビーズ担体の崩壊が起こっていることがわかった。SEM 写真を見ると、それ

に伴って特に吸着後システインビーズ(b')の表面で凹凸の程度が大きく、これはシステインの溶出が原因ではないかと考えられた。

IR 測定結果では 吸着前と吸着後の変化を比較すると、吸着前ではメルカプト基(S-H)の $2600\sim 2550\text{ cm}^{-1}$ に比較的弱く現れる吸収やアミノ基の $3100\sim 2600\text{ cm}^{-1}$ に幅広い N-H 伸縮振動、 $1660\sim 1610\text{ cm}^{-1}$ および $1550\sim 1485\text{ cm}^{-1}$ にアミノ酸由来の N-H 変角振動の吸収が見られることからシステインビーズでシステインの固定化が確認できる。一方、6時間吸着ではこれらの吸収が見られなくなりアルギン酸ビーズ同様の波形に変化していることから、明らかにシステインの溶出が認められた。

4 まとめ

本研究ではアミノ酸を用いた新たな機能を持ったアルギン酸ビーズづくりを目的とし、システインビーズが Fe の吸着能に優れていることがわかったので、システイン濃度、アルギン酸濃度などの基礎条件について検討を行った。その結果、粒子径 1.3 mm の 2%アルギン酸-16%システインビーズを最適な吸着体として 50 ppb の Fe 溶液について吸着実験を行ったところ、吸着率は吸着時間 30 分で 57.4%、6 時間で 77.8%となり、吸着率は向上したが 100%の吸着には至らなかった。システインビーズを SEM および FT-IR を使用し表面観察したところ、6 時間の吸着では明らかなシステイン溶出が認められたことから、このことが、100%にいたらなかった原因だと考えられる。

本研究で調製したシステインビーズはアミノ酸およびワカメの成分であるアルギン酸を用いて作成しており、有機溶媒などを用いない環境にやさしい吸着体ということで、その利用が期待される。用途としてはカラムに応用できないかと考える。そのためには、短時間の吸着であるとともに簡単に溶離でき、繰り返し使用可能なものでなければならない。実用にはシステイン溶出の改善が課題である。アルギン酸ビーズ(マイクロカプセル)は種々の錯生成試薬を導入することにより錯生成試薬に新たな機能を付与でき付加価値を高めることができるので、アミノ酸に限らず多彩な応用が期待される。また、システインを上手に固定化しその機能を最大限にかせる方法(固定化担体)があれば、システインの応用も期待できると考えている。