

ポリ(α -ヒドロキシアクリル酸ナトリウム)の土壌による消失Disappearance of poly (sodium α -hydroxyacrylate) by soil

0230110 須戸 ゆかり Yukari SUDO

1. 背景と目的

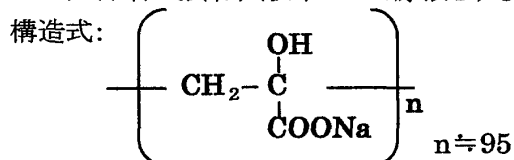
衣料用洗剤には界面活性剤の働きを補強するビルダーが配合されている。当研究室では、1994年からポリ(α -ヒドロキシアクリル酸ナトリウム): PHA の家庭用洗剤のビルダーとしての有効性を研究し始め、これまでに、カルシウム補足能、アルカリ緩衝能を確認し¹⁾、さらに油脂汚れに対しては液晶様の複合体を生成し²⁾³⁾⁴⁾、PHA 単独でも洗浄効果を有すること⁵⁾を明らかにした。そこで生分解性が確認できれば洗剤用ビルダーとして使用することが可能である。

松村らは、アクリル酸鎖(AA)にヒドロキシアクリル酸(HA)を導入して得たコポリマーでは、HA含有量の増加、すなわちアクリル酸鎖中のヒドロキシル基の増加につれて生分解性が向上することを報告している⁶⁾。しかし、PHAの生分解性についての研究報告は見当たらない。昨年度、小竹は下水処理場の流入下水でPHAを14日間処理しても全く質、量ともに変化しないことを、高速液体クロマトグラフィーにより明らかにした⁷⁾。次いで大学構内の土壌を用いた14日間の還流実験により、PHAの分子量分布が変化することを確認した。

本研究では、PHAの土壌による消失について、GPC(ゲルろ過クロマトグラフィー)を用いて調べることを目的とした。予備実験としてPHA水溶液のGPC分析を行ったところPHA(M_w 10500)は主に t_r 8.5に現れることがわかった。またPHA、土壌、培養液の混合を行ったところ、生土壌、滅菌処理土壌のどちらを用いた場合も t_r 8.5の急速な消失が見られた。また、混合液中にゲル状沈殿物質の生成が見られた。これらのことから今回の報告ではPHAの土壌への吸着とゲル状沈殿物質について述べ、生分解実験の結果と併せてPHAの生分解性の有無について明らかにすることを目的とした。

2. 試料と装置

[試料]・PHA30%水溶液: (M_w 10500, 日本パーオキサイド株式会社) (以下PHA原液とする)



・土壌: お茶の水女子大学理学部3号館前の花壇より採取し、目開き約2mmのフルイにかけて小石や枝等を取り除いた。

・培養液: JIS K 3363の培養基から酵母エキスを除いたものを用いた。水1Lに、 NH_4Cl 3.0g, NaH_2PO_4 1.0g, MgSO_4 0.25g, KCl 0.25g, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.0037gを溶解。

・水: 逆浸透イオン交換水

[装置及び分析条件]

・GPC ポンプ: 日立 L-2130, 検出器: 日立 UV-VIS 検出器 L-2420, 記録計: 島津クロマトパック CR-3A, 分析カラム Shodex-AsahipackGF-310

◇分子量分布測定◇

方法: 試料を採取しメンブランフィルター($0.45 \mu\text{m}$, 混合セルロースエステル)濾過後に注入する。分析条件: 移動相 $50\text{mMNa}_2\text{HPO}_4\text{aq}$, 流速 $0.6\text{mL}/\text{min}$, 検出波長 210nm , 注入量 $20 \mu\text{L}$

・恒温振とう器 大洋科学工業 M-100^F (30°C , 60cpm , 120cpm)

・顕微鏡 Nikon S-Ut

3. 実験

1) PHAの土壌への吸着

◇方法◇滅菌土壌(110°C , 半日)25g, 培養液200ml, PHA原液0.4gを混合する。以後PHA原液を1.8gまで追加し、そのつどGPC分析を行う。

◇結果◇PHA原液量が1.8gに至っても、 t_r 8.5ピークは混合一日後には完全に消失し、 t_r 11が増加するのみであった。この範囲においてPHAの土壌への最大吸着量を求めることはできなかった。よって、PHAの急速な消失の原因は、土壌への吸着であるとは言い切れない。一方、混合液体の懸濁状態が増していったことから、PHAの不溶性物質への変化による溶液中からの消失という可能性もあり得る。

2) ゲル状沈殿について

①沈殿発生の条件

◇方法◇PHA原液0.4g, 土壌25gあるいは滅菌土壌25g, 培養液200mlあるいは水200mlを様々な組み合わせ(表1, 2)で混合し、ゲル状沈殿物質発生の有無を観察する。

◇結果◇表 1, 2 より白色ゲル状沈殿物質は PHA・培養液・土壌の 3 者が存在する系において発生することが確認できた。滅菌土壌の場合は、沈殿の粒子径が小さく量も少ないが、沈殿が発生した。これらの沈殿物を採取して顕微鏡観察したところ、結晶等の規則的な形は見られなかったものの半透明の細かい粒子状物質の集まりであった。

表 1. 2 者間での沈殿発生			表 2. 3 者間での沈殿発生			
	培養液	水		培養液	培養液 滅菌土壌	水 土壌
PHA	—	—	PHA	○	○	—
土壌	—	—				

○: 沈殿発生, —: 沈殿発生無し

②沈殿物質の GPC 分析

試料の沈殿部分を少量採取し塩酸を加えて pH2 程度にしたところ沈殿物は溶解し、完全に透明な液体となった (図 1. 写真)。この溶液を GPC 分析したところ、 $t_r8.5$ 付近に大きなピークが現れた。PHA (M_w

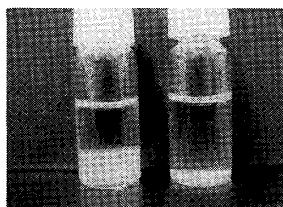


図 1. 沈殿の溶解(左:未処理,右:酸性)

10500) に相当する分子量であることから、沈殿物質は PHA が不溶性物質となっていたものと考えられる。

①②より PHA は土壌・培養液と混合すると、不溶性物質を形成し液体中から消失することがわかった。その不溶性物質は酸性にすることで溶解し、GPC で検出できるようになる。

3) 土壌を用いた PHA の生分解試験

◇方法◇土壌 25g あるいは滅菌土壌(オートクレーブ処理;121°C18分), 培養液 200mL, PHA 原液 0.4g を蓋付ガラス瓶中で混合し, 図 2 に示す構成条件の試料を作製する。それらを振とう器(30°C 60cpm)にて培養し, 以後 GPC 分析を行う。

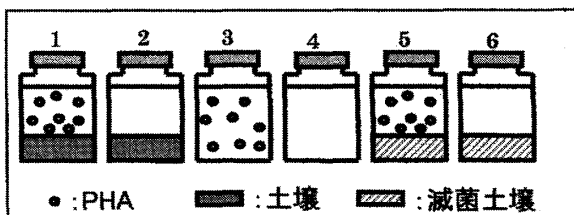


図 2. 生分解試験における各試料の構成条件

◇結果◇試料 1, 5 において PHA (M_w 10500) の主成分 $t_r8.5$ ピークは, 土壌と PHA の混合後急速

に消失し, 且つ, 試料 1, 5 において白色ゲル状沈殿物の発生が確認された。生分解試験を続けたところ, 約 60 日後には, 試料 1, 2, 5, 6 のクロマトグラムは形状が似たものとなり, $t_r11.5, 15$ ピークのみになった。図 2 に, 試料 1, 3, 5 の pH 調整しない分析(通常分析)と pH2 調整の分析で得られたクロマトグラムを示す。試料 5 (PHA・培養液・滅菌土壌) から通常分析では検出されなかった $t_r8.5$ 付近のピークが検出された。試料 1 (PHA・培養液・土壌), 試料 3 (PHA・培養液) は, 通常分析と pH2 分析でほぼ変化が無かった。よって滅菌土壌を用いた 5 においては, PHA は分解されずに不溶化した状態で混合液中に残っていたものと考えられる。また 1 においては PHA を分解する微生物が働き, $t_r8.5$ を完全に分解したと考えられる。

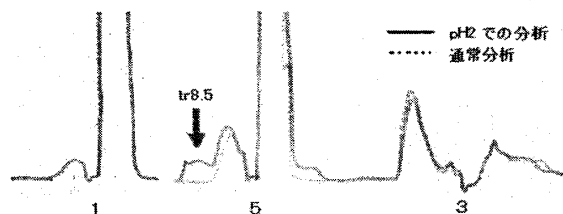


図 2. 溶解した沈殿物質のクロマトグラム

4. まとめ

PHA (M_w 10500) は土壌・培養液との混合系において, 不溶性物質の形成, あるいは土壌への吸着によって急速に消失し, その後約 60 日の振とう培養(30°C, 60cpm)の間に, 土壌中の微生物によって分解され, PHA を含まない混合液体とほぼ同じ組成となる。つまり, PHA は長期的に見ると生分解性があることがわかった。

5. 今後の予定

今後は試料 1 の溶液部分を微生物接種源として生分解試験を行う。生分解の時間効果についても調べると良い。一方で, PHA の土壌への吸着についてさらに研究が必要である。また PHA は酸性条件でラクトン型の存在比が高いことが知られているため, なぜ酸性で溶解するのか, 沈殿物質についても今後さらなる知見を得る必要がある。

【引用文献】

1) 佐藤真穂子, 卒業論文, 1995, 2) 金淑景, 修士論文, 1999, 3) 飯田桃子, 卒業論文, 1998, 4) 鳥居一美, 修士論文, 2004, 5) 山本亜紀子, 卒業論文, 1998, 6) 松村ら, 油化学, 34, 456-466(1985), 7) 小竹香寿美, 卒業論文, 2004

指導教員 駒城 素子