

ポリ(α-ヒドロキシアクリル酸ナトリウム)の生分解性

Biodegradation of polysodium(α-hydroxyacrylate)

0130105 小竹 香寿美 Kasumi OTAKE

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。かつてはトリポリリン酸塩(STPP)がビルダーとして使われていたが琵琶湖の富栄養化問題をきっかけとしてその利用が規制され、代替ビルダーの探索が行われるようになった。

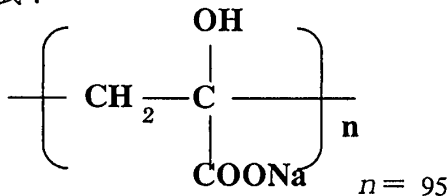
当研究室では、1994年からポリ(α-ヒドロキシアクリル酸ナトリウム):PHAの家庭用洗剤のビルダーとしての有効性を研究し始め、これまでに、カルシウム補足能、アルカリ緩衝能を確認し、さらに油脂汚れに対しては液晶様の複合体を生成し、単独でも洗浄効果を有することがわかっている。しかし、実際にPHAをビルダーとして使用するにはその環境中での分解性を無視できない。PHAについてはOH基を持つため、オリゴマーなら多少の分解性を有する¹⁾という報告もあり、これまでにPHAを含めポリアクリル酸ナトリウムの生分解性についての詳細な報告は見当たらない。

本研究では、生下水中と土壌中の微生物によるPHAの分解について高速液体クロマトグラフィー(HPLC)を用いて調べることにした。

2. 実験方法と結果

〈試料〉ポリ(α-ヒドロキシアクリル酸ナトリウム)(以下PHA)(平均分子量10500)

構造式:



〈生下水〉

落合水再生センターの流入下水
(2004年11月8日 約250 mL)

〈土壌〉

お茶の水女子大学理学部3号館前花壇の黒土を上にかぶっている落葉等を取り除き、採集。

屋内で自然乾燥ののち、目の大きさ約2 mmのふるいにかけた。

〈HPLC分析装置〉

ポンプ:島津LC-6A、検出器:SHODEX 875UV or SSC-5410 記録計:島津クロマトパック CR-3A

2.1 生下水による生分解性

〈手順〉

- 1) 10日前までに塩を含んだ希釈水(JIS K 0102に準ずる)をつくり、安定させた。

- 2) 試料(PHA)を濃度0.6 g/L(0.06%)になるようにメスフラスコに入れ、前処理(キムワイプで2回濾過)をした生下水を6 ml/Lになるように加えた後、1.の希釈水を標線までそそいだ。

- 3) 同時に生下水を入れないスタンダードも調製。

- 4) 振盪瓶に200 mL づつ移し替え、25 °Cで振盪機(約55 cpm)で17日間(14日間の予定だったが、変化が見られないので延長)培養した。

- 5) 各日適量を採取して、メンブランフィルタ(孔径0.3 μm)で加圧濾過し、HPLC分析試料とした。

分析条件

カラム: ODS300/カラム温度: 40°C

試料の注入量: 10 μl

移動相: 40% メタノール水溶液/流量: 1 mL/min

検出波長: 240 nm (装置の限界波長)

〈結果〉

生下水処理後0日目および14日目の処理液のクロマトグラムを図1に示す。

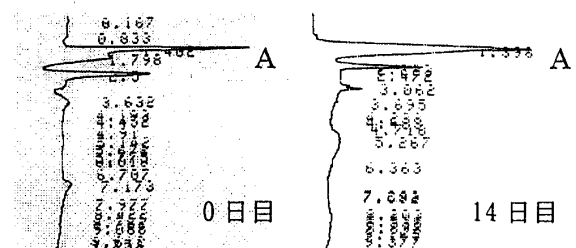


図1 生下水処理0,14日目のクロマトグラム

$t_R = 1.3$ 付近のピーク(図1のAがPHAである)面積の時間変化を図2に示す。

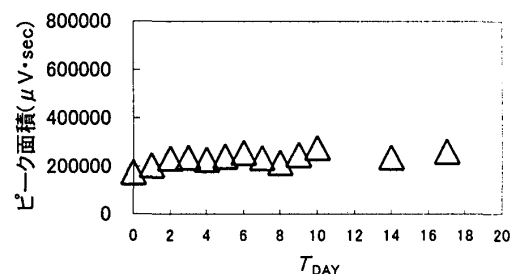


図2 生下水処理時間とピークA面積の関係

PHAのピーク面積の減少はみられなかった。また、処理10日後、30日後に測定したUV吸収スペクトルにも変化は見られなかった。

2.2 土壤環流による生分解性

<環流液>

純水 1 L に、塩化アンモニウム 3.0 g、リン酸水素ニカリウム 1.0 g、硫酸マグネシウム、塩化カリウム各 0.25 g、硫酸鉄(II) 0.002 g を溶解。

(片山らの実験²⁾を参考に JIS K 3363 の培養基から酵母エキスを除いた処方)

環流液への PHA 添加量 : 0.6 g/L

<手順>

- 1) ガラス管 (2 cm φ × 32 cm) に、採集して乾燥、選別した土壌を約 40 cm³ (高さ 12 cm 程度) つめ、土壌カラムを作成した。
- 2) 環流液容器、ポンプ (マイクロポンプ KP-8T、草野化学機械製)、土壌カラムを接続し、土壌環流装置を組み立てた。図 3 に示す。
- 3) 環流液量 200 mL (うち PHA 0.4 g)、常温、還流速度 0.03 mL/min で環流し続けた。所定時間毎に少量採集し、メンブランフィルタ (0.3 μm) で加圧濾過し、HPLC で分析した。

分析条件

カラム : Shodex Asahipak GF-310 (GPC 用)

カラム温度 : 40℃

試料の注入量 : 25 μL

移動相 : 50 mM Na₂HPO₄aq

流量 : 0.6 mL/min

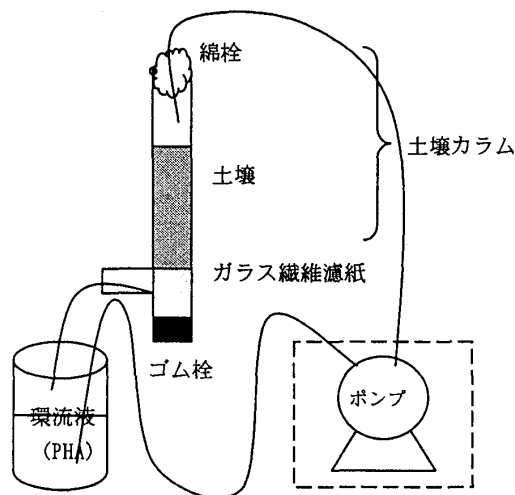


図 3 土壌環流装置

<結果>

土壌環流実験による環流液のクロマトグラムを図 4 に示す。

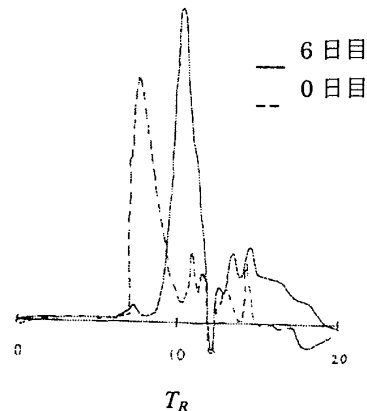


図 4 土壌環流液のクロマトグラム

環流 6 日後では大きなピークの減少はないものの、ピークのシフトが見られた。

$t_R = 8.3$ 付近の主ピークは 2 日後には消失し、 $t_R = 10.5$ 付近に相当する面積のピークが現れた。

3. 考察

生下水により 14 日間培養した結果、クロマトグラムのピーク面積、吸収スペクトルともに変わらないことから PHA は生下水中の微生物に影響を受けないことがわかった。したがって、PHA は水中で難分解性であるといえる。

土壌微生物による分解性実験では環流時間 6 日で GPC クロマトグラムの溶出時間に増加が認められた。このことは低分子量化合物に変化したことを示しており、用いた平均分子量 10500 の PHA は土壌微生物により幾分分解したと言える。

土壌中で何らかの作用を受けているということは、さらに研究を進めれば PHA の分解菌の分離にいたるかもしれない。

4. 今後の検討課題

- ・ ピークの分離能をより良くするための分離条件、カラムを探る。
- ・ どの程度の分子量まで分解できるのか追及する。
- ・ 土壌の種類を変化させた実験を行う。

【引用文献】

- 1) 松村ら、油化学、34、456-466 (1985)
- 2) 片山ら、家政学雑誌、31、736-741 (1980)

【謝辞】

HPLC 装置に関しましてセンシュウ科学 (株) の山口千秋氏に多大なるご協力をいただきました。ありがとうございました。

(指導教員 : 駒城 素子)