

<令和3年度助成>

非荷電少糖類の高速分離を実現する糖鎖のキレート架橋に基づく 高流束ナノろ過膜の創成

加島 敬太

(小山工業高等専門学校 物質工学科)

1. 緒言

膜分離は、膜を介した物質移動の速度差を利用した分離技術の総称であり、基本的に非加熱かつ相変化を要さずに対象成分を分離できるため、熱に不安定な食品成分の分離精製に有利な分離プロセスである。分子量が約 1,000 以下の溶質分子を溶媒分子から分離するナノろ過は、生体分子の分離・濃縮に有利な分離操作として知られ、近年、研究開発が活発化している技術領域である。ナノろ過プロセスでは、対象となる溶質分子群同士、並びに溶媒分子との分子サイズが僅差であるため、実用的な分子分離には工夫が必要である。特に、静電的な引力・反発力を持たない非荷電性分子群の分離は困難であり、精密な膜構造の形成が要求される。

少糖類の分子サイズはナノろ過の対象範囲であり、脱水による濃縮や多糖からの分画に利用されている。一方で、少糖類やオリゴ糖と称される分子量範囲内では分子のサイズ差が 1 nm 以下となり、非荷電性かつ物理化学的物性が近似しているため、少糖類同士における分画分離は課題が多い。例えば、マルトテトラオースは、4 分子のグルコースが α -1,4 グリコシド結合したオリゴ糖であり、多糖の加水分解で容易に得られるにも関わらず、単糖グルコースから三糖マルトトリオースまでの副生物との分離が困難であることから、高純度品は極めて高価である。

本研究では、糖鎖で形成された高分子ネットワークによって微細なオリゴ糖類のサイズ差を鋭敏に認識して分離するナノろ過膜の開発に取り組んだ。膜基材として、対象分子である糖のスケールで高分子ネットワークを形成し得るアルギン酸ナトリウムと

κ -カラギーナンに着目した。アルギン酸ナトリウムは α -L-グルロン酸ナトリウムと β -D-マンヌロン酸ナトリウムからなるブロックポリマーであり、グルロン酸ナトリウムの連続したブロックにおいて、金属イオンを配位することで緻密なゲル構造を形成する。架橋金属イオンとしてカルシウムを用いることで形成されるアルギン酸カルシウムゲルは、食品添加物にも指定されており安全性に優れるとともに、水に不溶ながら親水的表面を有するゲルを形成する高分子素材である。また、 κ -カラギーナンは、D-ガラクトースを基本骨格として部分的に硫酸エステル基と 3,6-アンヒドロ-D-ガラクトースを有する多糖類である。熱湯に可溶で、室温まで冷却することで二重らせん構造をとってゲルを形成できるだけでなく、硫酸基が金属イオンとイオン交換することにより安定なゲル構造を得ることができる。

本研究の目的は、アルギン酸カルシウム薄膜を分離層として、 κ -カラギーナン層を積層させることで、高い透水性を有しつつオリゴ糖類の分離を達成できるナノろ過膜を形成し、最適な調製条件を見出すことである。

2. 実験方法

2.1 製膜方法

1wt%アルギン酸ナトリウム水溶液 W_{alg} [g] をガラス製シャーレに分注し、電気乾燥器を用いて 30℃で 1day 乾燥させた。シャーレに 1 M の塩化カルシウム水溶液 20 mL を添加してキレート架橋を行った。純水で洗浄後、1wt% κ -カラギーナン / 0.5 wt%アルギン酸ナトリウム / 0.5 wt%ポリエチレン

グリコールとなる混合水溶液 W_{carr} [g] を加えて 30℃で 1day 乾燥させた。乾燥後、再び 1 M の塩化カルシウム水溶液 20 mL を添加して膜全体にキレート架橋を施し、恒温振とう器を用いて 40℃の純水中で洗浄することで、ポリエチレングリコールと余剰の塩化カルシウムを除去した。調製した膜は純水中に浸漬させて 4℃の冷蔵庫で保存し、膜透過試験に用いた。

このとき製膜に用いた 2 種の溶液質量を用いて、膜中におけるカラギーナン層の積層割合 φ [-] を (1) 式で定義した。

$$\varphi = \frac{W_{carr}}{W_{alg} + W_{carr}} \quad (1)$$

2.2 電子顕微鏡による構造観察

膜の微細構造を観察するため、電解放出型電子顕微鏡 (Field Emission Scanning Electron Microscope、FE-SEM) を用いて構造観察を行った。 $\varphi = 0.5$ で調製した膜を純水で十分に濡らした状態で液体窒素に浸漬させて瞬間凍結し、真空凍結乾燥機 (EYELA、FDS-2000) を用いて乾燥させた。湿潤状態から真空凍結乾燥で水を除去することで、ろ過操作中の膜構造に近い濡れ状態の構造を維持して電子顕微鏡観察に供することが可能となる。膜試料を観察ステージに固定してイオンスパッタリングで Pt をコーティングし、導電性を付与することで FE-SEM 観察に供した。また、エネルギー分散型 X 線分光法 (Energy Dispersive X-ray Spectroscopy、EDS) を用いて膜構造中の硫黄 S の分布を検出した。

2.3 純水透過試験

攪拌子付き加圧式膜透過装置 (ADVANTEC、UHP-90K) に膜を設置し、窒素ガスで 50 ～ 300 kPa に加圧して純水を透過させた。膜を透過した純水の質量を経時的に測定して、密度を用いて体積に換算し、膜透過流束 J_v [$\text{m}^3/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$] を (2) 式で算出した。

$$J_v = \frac{V_p}{A \cdot t} \quad (2)$$

ここで、 V_p は透過した純水質量 [kg]、 A は膜面

積 [m^2]、 t は時間 [s] である。

2.4 マルトオリゴ糖混合液の透過試験

前項と同様に膜透過装置に膜を設置して、マルトオリゴ糖混合液を加圧透過させた。透過試料は単糖グルコース、二糖マルトース、三糖マルトトリオース、四糖マルトテトラオースを含有するマルトオリゴ糖混合液 (ナガセヴィータ株式会社、テトラップ) を 1 wt% に希釈した糖混水溶液を用いた。各糖の初期供給濃度と、膜を透過した液中の濃度を高速液体クロマトグラフィーで定量し、(3) 式を用いてみかけ阻止率 R_m [-] を算出した。

$$R_m = 1 - \frac{C_p}{C_f} \quad (3)$$

ここで、 C_p は透過液中の糖濃度 [M]、 C_f は供給液中の糖濃度 [M] である。

3. 結果および考察

図 1 に $\varphi = 0.5$ で調製した膜の FE-SEM による観察像、並びに EDS を用いて検出した硫黄の元素マッピング像を示す。製膜時に 1 層目として形成させたアルギン酸層と、2 層目として積層させたカラギーナン層が、それぞれシャーレ底側と上面側に接合して形成されている様子が確認された。また、EDS による元素マッピングにて、上面側の 2 層目にのみ硫黄 S が検出されたことから、上面 2 層目にカラギーナン層が安定に積層されていることを明らかにした。

図 2 に調製した膜を用いた純水透過試験における透過流束 J_v [$\text{m}^3/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$] に対する操作圧力 ΔP [kPa] の影響を示す。膜中におけるカラギーナン層の積層割合 $\varphi = 0 \sim 1$ のすべての膜で、操作圧力の上昇にともなって純水透過流束は一次比例で増大した。また、 φ の増大にともなって同一圧力における透過流束が増大したことから、アルギン酸層にカラギーナン層を積層させることで透水性の向上に成功した。

図 3 に、種々の φ で調製した膜を用いたマルトオリゴ糖混合液の透過試験における、グルコース (180

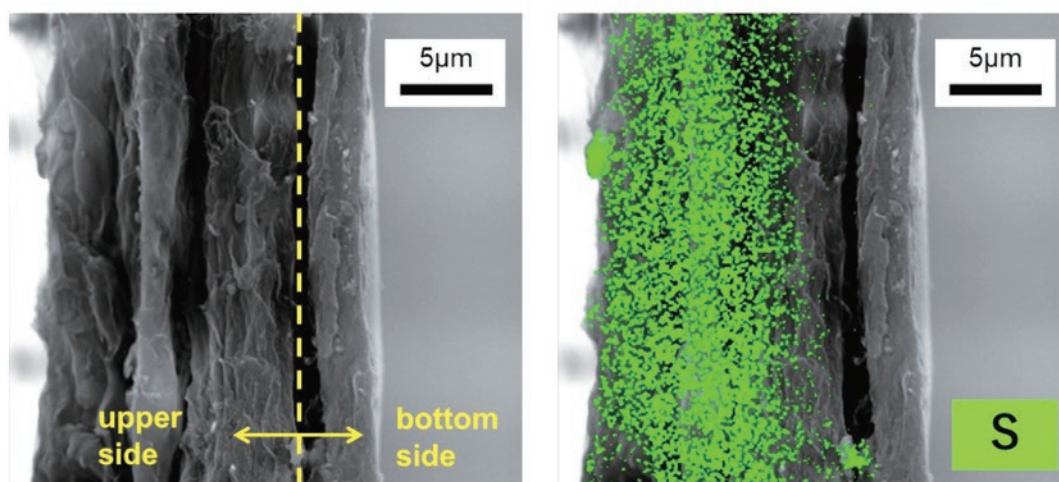


図1 アルギン酸/カラギーナン積層膜 ($\phi = 0.5$) のFEM 観察像。ライトグリーンは硫黄Sのマッピング領域

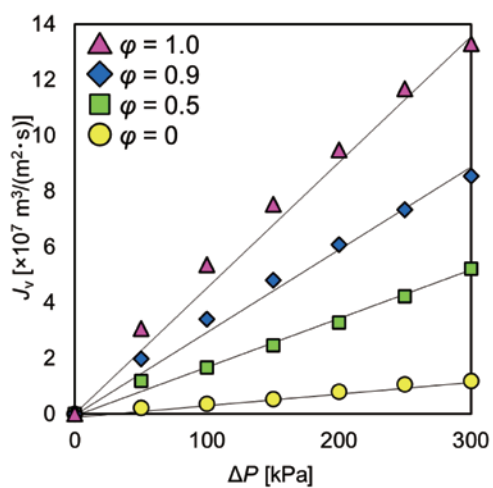


図2 純水透過流束 (J_v) に対する操作圧力 (ΔP) の影響

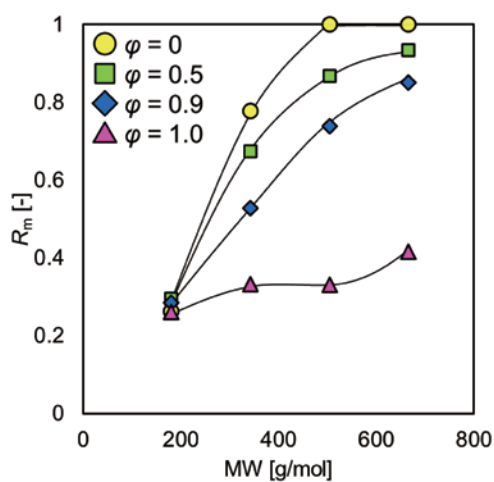


図3 各糖類におけるみかけ阻止率 (R_m)

g/mol)、マルトース (342 g/mol)、マルトトリオース (504 g/mol)、マルトテトラオース (666 g/mol) のみかけ阻止率 (R_m) を示す。アルギン酸のみの膜 ($\varphi = 0$) において、グルコースに対して $R_m = 0.26$ 、並びに三糖以上の糖に対して $R_m \approx 1$ の阻止率を示したことから、アルギン酸層はマルトオリゴ糖の微小な分子サイズを認識する透過選択性を有することを明らかにした。一方、カラギーナン層のみの膜 ($\varphi = 1$) では、グルコースからマルトテトラオースまで阻止率の差が僅少であり、明らかな透過選択性は発揮されなかった。少糖類に対する透過選択性はキレート架橋されたアルギン酸層が支配的に作用しており、 φ の増大によってカラギーナン層の割合が増大し、相対的にアルギン酸層の割合が低下することで透過選択性が低下したと考えられる。 $\varphi = 0.9$ の膜までは高い選択性が維持されており、透水性の結果と照らし合わせて最適な積層条件を見出した。

4. 結言

本研究では、アルギン酸のキレート架橋形成によって非荷電少糖類の分離に適したナノろ過膜を開発するとともに、カラギーナン層の付与による高流速化を実証した。膜内におけるカラギーナン層の存在比率 $\varphi = 0.9$ の膜ではマルトオリゴ糖類の高い選択性と透水性が維持されており、これを最適な製膜条件として更なる非荷電分子群の高度分離が期待できる。

謝 辞

本研究の遂行にあたり、研究助成を賜りました公益財団法人 浦上食品・食文化振興財団に厚く御礼を申し上げます。

High flux nanofiltration membrane based on chelate-crosslinked polysaccharide networks for separation of uncharged oligosaccharides

Keita KASHIMA

*National Institute of Technology, Oyama College (Oyama KOSEN)
Department of Materials Chemistry and Bioengineering*

A high flux nanofiltration membrane consisting of a calcium alginate layer and a κ -carrageenan layer was successfully prepared for the separation of uncharged oligosaccharides. Morphological observations using a Field Emission Scanning Electron Microscope combined with Energy Dispersive X-ray Spectroscopy revealed the formation of a double layer in the membrane, as well as the presence of sulfur derived from carrageenan on one side. The gravimetric fraction of the carrageenan layer in the membrane (φ) was defined as the weight of the carrageenan solution divided by the total weight of the alginate solution and carrageenan solution, respectively casted on a Petri dish. In a pure water permeation experiment driven by pressure, introduction of a carrageenan layer to the calcium alginate membrane followed by a thinning calcium alginate layer resulted in a remarkable improvement of the volumetric water permeation flux. The water permeability increased with increasing φ . On the other hand, the difference in the rejection rates of glucose and maltotetraose increased with decreasing φ in a filtration experiment using an oligosaccharide mixture containing glucose, maltose, maltotriose, and maltotetraose. This result indicates that the alginate layer formed by chelate-crosslinking with calcium ions exerted a high permeation selectivity for such oligosaccharides. From the two perspectives of water permeation flux and rejection rate, the optimum condition was determined to be $\varphi = 0.9$. The new nanofiltration membrane developed in this study holds promise for application to the separation of uncharged molecules such as oligosaccharides.