

N-4 固相抽出法を用いたサポニンの定量と 排水処理施設での応用事例

○岡田 真治^{1*}・榊原 隆司²・古崎 康哲³・笠原 伸介³・石川 宗孝³

¹大阪工業大学大学院工学研究科環境工学専攻 (〒535-8585 大阪府大阪市旭区大宮5丁目16番1号)

²松下環境空調エンジニアリング株式会社 (〒564-0062 愛知県春日井市鷹来町字下仲田4017番)

³大阪工業大学環境工学科 (〒535-8585 大阪府大阪市旭区大宮5丁目16番1号)

* E-mail: okada@env.oit.ac.jp

1. はじめに

サポニンとは、非糖部のサポゲニンと糖部からなる配糖体で、親水基の糖部と疎水基のサポゲニンをもつことから天然の界面活性剤として知られている。サポニンを含む植物抽出液を生物処理に適用した場合の効果としては、酸素移動効率の増大、油脂の乳化促進作用などが過去の研究から明らかになっており、特に油脂濃度の高い排水処理に効果があることが報告されている。筆者らは、キラヤ抽出液を使ってその効果を確認しているが、サポニンを含む他の植物抽出液でも同様の効果が得られることが考えられる。

複数種のサポニンの効果を比較するためには、まず同一の定量方法を確立し植物抽出液中のサポニン含有量を把握しておく必要がある。現在のサポニン分析はHPLCを用いることが多いが、植物によって構造が異なるため他種のサポニンの定量には適さない。

以上のことから、本研究では植物由来のサポニンの定量に広く適用できる分析方法として、固相抽出法と紫外吸光度法を用いた定量方法を検討し、植物抽出液中に含まれるサポニンの定量を行った。次に、酸素供給試験により、各種植物抽出液の比較を行った。さらに、キラヤ以外の植物抽出液を用いた油脂含有排水の室内連続処理実験及び実排水処理施設での効果もまとめて報告する。

2. 実験方法

(1) 固相抽出法によるサポニン定量試験

a) 試薬及び試料

固相抽出の検討では低純度のサポニンとして関東化学製のサポニンを用いた。検量線用のサポニンとしては、和光純薬製の大豆サポニン(純度約80%以上)を用いた。試料はキラヤ(南米産)、ムクロジ(ネパール産)、サイカチ(ベトナム産)の各抽出液を用いた。

b) 固相及び装置

固相としてVarian社製逆相系充填剤C18(以下カラム)を用いた。溶出溶媒はメタノールを用いた。分光器は米国OceanOptics社製超高波長分解能分光器を使用し、210nmの吸光度を測定してサポニンを検出した。

c) 固相抽出法

固相抽出法とは、シリカゲルなどの固定相(固相)を用いて複雑な組成を示す試料中から特定の目的成分のみを選択的に分離する手法である。固相抽出法においては、分離したい物質に対する固相の親和力は、その物質を溶かした溶媒に対する親和力よりも大きくなる。したがって、試料溶液が固相を通過するとき分離目的物質は固相表面に吸着され、その他の溶液成分は通過する。

前処理の方法として固相抽出法は、他の分離方法に比べて操作が容易で、少量の有機溶媒で抽出が行えることから、環境面、操作性、コストの面でも有利である。

本試験で行った固相抽出法のフローを図-1に示す。まず、試料1mlをカラムに通過させサポニンを吸着させた。その後、カラムに残存している可能性がある水和性、イオン性の成分を10mlの蒸留水で排除した。最後に、3mlのメタノールをカラムに通過させ固相に吸着しているサポニンを溶出させた。サポニンの確認方法として、発泡作用の確認、薄層クロマトグラフ法(以下TLC)を採用した。

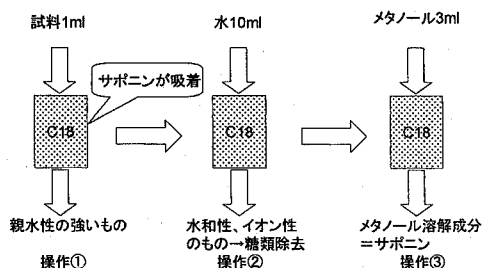


図-1 固相抽出法のフロー

(2) 総括酸素移動容量係数(KLa)の測定

a) 試料及び装置

容器に10Lの水道水と亜硫酸ナトリウムを2g投入し、水中の溶存酸素を0mg/Lとした後、曝気量2.0L/minで曝気を行い、溶存酸素濃度の経時変化をDOメーター(電極法)で測定した。また、同様の方法でキラヤ、ムクロジ、サイカチの抽出液を水量に対し0.05mL投入してからDOの測定を行った。

b) 総括酸素移動容量係数(KLa)

総括酸素移動容量係数(以下KLa)は、式-1より算出した。

$$K_L a = \frac{2.303}{t_2 - t_1} \log \left(\frac{C_s - C_1}{C_s - C_2} \right) \quad \dots (式-1)$$

ここで、 C_1 : t_1 時間における溶存酸素濃度(mg/L)、 C_2 : t_2 時間における溶存酸素濃度(mg/L)、 C_s : 実験時の水温と気圧で定まる飽和酸素濃度(mg/L)。KLa: 総括酸素移動容量係数(1/h)

(3) 連続処理実験(室内実験)

a) 投入基質及び運転条件

図-2 に示すような揺動担体を充填した完全混合型活性汚泥装置を用いて、サポニン含有植物抽出液添加と無添加による油脂除去能の比較実験を行った。投入基質としてグルコース、ペプトンを主成分とした人工下水を使用し、希釈水と共に定量ポンプで連続投入した。油脂はN社製の植物油を適宜希釈し60℃で温熱攪拌しながら定量ポンプで間欠投入した。サポニンはサイカチ抽出液を使用し攪拌しながら定量ポンプで間欠投入した。曝気量2.0~3.0L/min、HRT8hr、設定MLSS5000mg/L、曝気槽内温度25℃とした。実験条件を表-1に示す。

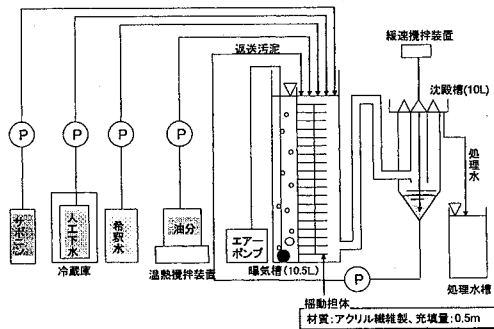


図-2 実験装置概略図

表-1 実験条件

項目	単位	Run1	Run2	Run3	Run4	Run5
運転日数	(day)	0~7	7~14	14~22	22~29	29~35
流入TOC	(mg/L)	111.1	117.6	135.1	161.0	196.3
流入n-Hex	(mg/L)	2.5	10.1	30.4	60.5	101.4
TOC容積負荷	(kg/m ³ /day)	0.33	0.36	0.41	0.49	0.59
n-Hex容積負荷	(kg/m ³ /day)	0.008	0.031	0.092	0.18	0.31
サイカチ添加濃度	(ppm)		5.3	10.6	21.1	31.9
サポニン添加濃度	(mg/L)		0.5	1.0	2.0	3.0

項目	単位	Run1	Run2	Run3	Run4
運転日数	(day)	0~6	6~13	13~21	21~28
流入TOC	(mg/L)	111.1	113.3	117.6	135.1
流入n-Hex	(mg/L)	2.5	5.1	10.1	30.4
TOC容積負荷	(kg/m ³ /day)	0.33	0.34	0.36	0.41
n-Hex容積負荷	(kg/m ³ /day)	0.008	0.015	0.031	0.092

(4) 除食品加工除害施設での添加実験(現場実験)

現場実験は、食品加工工場の除害施設にて行った。施設のフロー及び概要を図-3、表-2に示す。曝気槽には、揺動担体(5.25m/本、792本/槽)が設置されている。本施設の処理水は下水放流であることから、沈殿槽を設置せず基準値以内で適度に汚泥が剥離するような設計としている。流入排水が時間によって変動するため、水量が多い時間帯には油水分離槽が十分に機能せず、設計値を上回る油脂が調整槽へ流入しており、処理水質の悪化や発泡が起こっている状況であった。

サポニン(サイカチ抽出液)の投入は薬液タンク(500L)を使用し、水道水で2%に希釈してから定量ポンプで調整槽に投入した。投入量は、31.7L/day(原液として630mL/day、流入排水量の9ppm)とした。

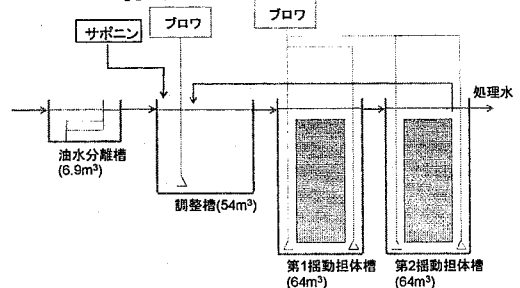


図-3 除害施設フロー図

表-2 除害施設概要

業種	食品加工(スイートポテト)
流入水量	70m ³ /day
流入水水質(油水分離槽通過後)	
BOD	1600~3500(2400)
SS	350~600(500)
n-Hex	200~330(270)
単位:mg/L ()内は平均	
HRT	1.8day
BOD容積負荷	1.3kg/m ³ /day
n-Hex容積負荷	0.15kg/m ³ /day

3. 実験結果

(1) 固相抽出法によるサポニン定量試験

a) サポニンの確認

まず、不純物が存在する低純度のサポニン試薬を用いて、図-1の方法に従って固相抽出を行い、操作①、②、③でカラム通過後の溶液についてTLCを行った。図-4にTLCの結果を示す。TLCは、イソプロピルアルコール：酢酸エチル：水(7:1:2)の展開溶媒を用いて、順相系シリカゲルプレートで行った。発色試薬として50%濃硫酸を用いて、R_f値、スポットの色からサポニンの確認を行った。図-3より、①、②は、R_f値0.5~0.6に黒色のスポットが検出された。これらは糖類のスポットの色、R_f値と同様であることから①、②は、糖類であることが示唆された。③は、R_f値0.7に赤茶色のスポットが検出された。サポニンのスポットの色、R_f値も同様であることから③は、サポニンであることが示唆された。よってTLCの結果か

ら①、②では糖などの親水性物質がカラムを通過したことが示唆され、③では糖が存在せず、カラムに吸着しているサポニンがメタノールによって溶出されたことが示唆された。次に、発泡作用の確認をするため、①、②、③をそれぞれ密閉した試験管に入れ10秒間振とうした。その結果、①、②はまったく発泡しなかったが③は発泡を生じた。サポニンは、振とうすると微細な泡を生じることから③はサポニンが含有されていることが確認できた。以上の結果から、TLCと振とう試験の結果から固相抽出によるサポニンの分離が可能であることが確認できた。

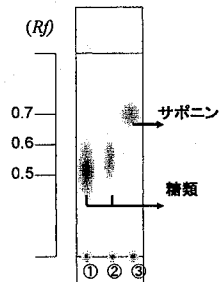


図-4 TLCの結果

b) 各試料のサポニン含有量

検量線用サポニン0.1、0.05、0.025g/L水溶液を作り、それぞれの固相抽出後のサポニン含有メタノール溶液の吸光度を測定し、検量線を作成した。試料も同様に固相抽出後の溶液の吸光度を測定し、検量線をもとにサポニンを定量した。表-3に各試料のサポニン含有量を示す。

表-3 各試料のサポニン含有量

試料	サポニン含有量(g/L)
キラヤ	58
ムクロジ	26
サイカチ	95

(2) 総括酸素移動容量係数(KLa)の測定

図-5にKLaの実験結果を示す。いずれの抽出液も水道水よりKLaが高い値を示した。また、キラヤとサイカチはサポニン含有濃度に違いはあるがほぼ同じ結果となった。これより、いずれのサポニンも酸素供給能の向上に効果があることがわかり、ムクロジ、サイカチの抽出液もキラヤ同様に排水処理に適用できることが示唆された。

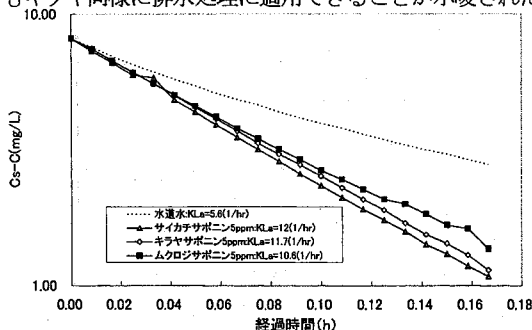


図-5 各抽出液のKLaの変化

(3) 連続処理実験による油脂除去能力の検討

図-6にサイカチ抽出液を用いた室内実験の結果を示す。対象系ではn-Hex容積負荷が0.092kg/m³/Lまで運転可能であったのに対し添加系では約3倍のn-Hex容積負荷まで運転可能であった。これは、抽出液添加系では、バルキング及び槽内汚泥の嫌気化が抑制されたためであり、サイカチ抽出液を用いた場合でも、キラヤ抽出液と同様に油脂除去能力が向上することがわかった。

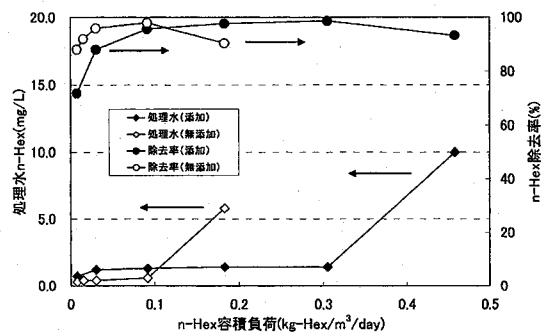


図-6 n-Hex 容積負荷と処理水 n-Hex 及び n-Hex 除去率

(4) 現場実験によるサポニン(サイカチ抽出液)添加効果

表-4にサポニン投入前後の処理水質を示す。サポニン投入により処理水BOD、n-Hexに改善が見られた。また、揺動担体槽の発泡量が減少した。

以上のことからサポニンの投入により、過負荷による処理水質悪化及び発泡が改善されることがわかった。

表-4 処理水水質

	サポニン投入前	サポニン投入後
BOD	930~1100(1000)	120~360(210)
SS	370~405(390)	56~380(200)
n-Hex	29~54(45)	7~20(13)

単位: mg/L (内は平均値)

5.おわりに

本研究で提案した固相抽出方法は、植物抽出液からサポニンを分離することができた。また、植物抽出液を固相抽出することで紫外吸光度法でのサポニン定量が可能となり、異なった植物抽出液のサポニン含有量を同一の手法で定量可能となった。さらに、本研究ではサイカチの抽出液を用いて生物処理での油脂除去能力の検討を行ったところ、サポニン含有量の多い植物抽出液であれば、同様に含油排水処理に適用できることが示唆された。

謝辞

本研究では、共同研究者である川合宏氏、井原直也氏ならびに多くの方々に協力をいただきました。協力してくださった全ての方々に厚く御礼申し上げます。