気泡表面への水溶性球状蛋白質の吸着速度に関する一考察[†]

久保田克之・藤川卓也・中山将輝

神戸大学工学部 応用化学科^{††}

緒 言

溶存有機物質が気・液界面（今の場合は気泡表面・水溶液との界面）に吸着する現象は古くから知られている。有機物質には有機酸、フェノール類、溶存性の蛋白質類、凝集性蛋白質などが挙げられる。例えば、凝集性蛋白質の一つであるカゼインもこのコロイド状の粒子（フロック）が気・液界面に強い疎水性を示すことより気泡を吸着剤と考え、この粒子を水より効果的に分離することが出来る。このことより廃水中に存在する凝集性蛋白質の除去操作の一つとして気泡分離操作の可能性がある。溶存性蛋白質もこの分子構造に起因すると思われる疎水性のために気泡吸着してこの水溶液より分離される。換言すると濃縮される。一般に蛋白質は気体と接触することで変性することが知られている。しかしここに示すように、気泡分離では気・液に接触する時間は高々4秒程度であり、この時間に吸着分離が完結する。

このことより気泡分離法は蛋白質の分離（濃縮）法の一つとして可能性がある。筆者らは水溶性蛋白質に着目し、動的吸着平衡に至る吸着速度の定式化を試みた。

1. 実 験

水溶性蛋白質の一つとして牛血清アルブミン（粉末：以下BSA）を選択した。分離効率（濃縮効率）の指標の一つとして、気泡単位面積当たりの吸着成分の吸着量を表面過剰量（コロイド化学的には表面密度）と定義し、実験結果をこの形に定量化、これを評価した。

使用した連続式気泡塔をFig. 1に示す。気泡発生器には球状焼結ガラスを使用し、これを塔底部に設置した。各実験における平均気泡径は写真撮影法により決定した。また支持電解質として塩化ナトリウムを添加した。動的表面過剰量は塔全体の溶存吸着成分に関する収支（Okamoto and Chou, 1979）より導かれる。Eq. (1)によって決定した。

Eq. (1)は離塔全体の液流れに関する収支式、Eq. (1)-aと吸着成分に関する収支式、Eq. (1)-bとによって導

かれるが、塔頂より系外に去る量はEq. (1)-cに示すようにに泡沫相を形成する気泡間隙と気泡表面に保持される量の和である。

$$\Gamma = Q\bar{d}_b(C_F - C_R)/6G \quad (1)$$

$$Q = Q_1 + Q_2 \quad (1)-a$$

$$QC_F = Q_1C_{\text{Foamate}} + Q_2C_R \quad (1)-b$$

$$Q_1C_{\text{Foamate}} = Q_1C_R + (6G\Gamma/\bar{d}_b) \quad (1)-c$$

Eqs. (1)-a～(1)-cよりEq. (1)が得られる。有効塔高さ（気・液接触部長さ）は1.6 mである。BSAの等電点はpH=4.7-4.9（Arai *et al.*, 1984）にある。この点で一般に蛋白質は見掛けの荷電を失い、疎水性がより強く現れると言われている。実験において変化させたpHの値は二つである。

実験によって得られた動的過剰量（以下過剰量）と平衡濃度との関係をFig. 2に示す。pH=5.3における過剰量は濃度の増加とともに増加し、 $1.1 \times 10^{-6} \text{ kg/m}^2$ に漸近する。図中には、GrahamとPhillips（Graham and Phillips, 1979）によってこの系における完全静止状態（トレーサー法によって得られたもの）での平衡関係を示す。本実験線と比較すると、この静的な方が遙かに気・液接触時間が長いいため大きな過剰量を示し一致は見られない。しかし、GrahamとPhillips（Graham and Phillips, 1979）はこの図における濃度範囲において彼らの過剰量が、ラングミュア型に相関されると結論づけている。本結果のラングミュア相関式を図中に示した。このことより、接触時間は大きく違うが、両過剰量と濃度との関係には類似性が存在するものと推察される。

次に気泡塔の高さを変化させて（気・液接触時間を変化させて）測定した過剰量対接触時間との相関をFig. 3に示す。各曲線における条件は図中に示す。三つの塔内平均濃度をパラメーターにとった相関である。

気泡の平均上昇速度は、気体空塔速度と空隙率の測定値より決定した。図に示すように、BSAは気泡に強く吸着する。この結果供給液濃度と塔内平均濃度との間には大きな差がある。BSAは直接紫外域に吸収があることを利用して（Arai *et al.*, 1978）定量を行った。吸収波長280 nmにおいて定量した。二つのpHにおいて検量線の勾配には変化なく、また支持電解質もこれに影響を及ぼさなかった。

[†] 1995年11月8日受理：化学工学会第59年会（仙台，1994年3月）にて一部発表

Fig. 1 Experimental setup of continuous bubble separation

2. 吸着速度式

水溶液を上昇する単一気泡の単位面積、単位時間当たりの吸着速度が境界説に準じて Eq. (2) のように表現し得るものとする。さらに、過剰量がラングミュア式, Eq. (3) によって表現し得るものとする。

実験定数, a_1 , a_2 は Fig. 2 に示す。

k_1 は単一気泡における境界物質移動係数である。

Eq. (4) は Eq. (2) より得られ, また Eq. (2) は Eq. (5) を与える。

$$d\Gamma/dt = k_1(C_b - C'_s) = k_a(C'_s - C_s) \quad (2)$$

$$\Gamma = a_1 C_s / (1 + a_2 C_s) \quad (C_s = \Gamma / (a_1 - a_2 \Gamma)) \quad (3)$$

$$C'_s = (k_1 C_b + k_a C_s) / (k_1 + k_a) \quad (4)$$

$$d\Gamma/dt = k_1 k_a (C_b - C_s) / (k_1 + k_a) \quad (5)$$

この吸着速度式では, BSA 分子が気・液界面にまで流体境界膜を通じて輸送された後, これが2次元的な吸着状態に至り, すなわち過剰量と定義される状態を取りうるまでの全ての抵抗は, 推進力を $C'_s - C_s$ と考え, さらに C_s と Γ との間には常に平衡関係があるとした場合の移動係数に含めている。Eq. (3) を Eq. (5) を代入して Eq. (6) を得る。この式より Eq. (6)-1 が言える。さらにこの式より, Eq. (6)-2 が言え, これを k_a に関して整理して, Eq. (7) が導かれる。X, Y はそれぞれ以下に示す各式

Fig. 2 Variation of dynamic equilibrium surface excess against bulk concentration
($\circ$: $\Gamma_e = 3.68 \times 10^{-4} C_s / (1 + 326.62 C_s)$; $C_{NaCl} = 0.1 \text{ kmol/m}^3$; $\text{pH} = 5.3$; $L = 1.6 \text{ m}$; $G = 2.63 \times 10^{-6} \text{ m}^3/\text{s}$; recalculated; $\bullet$: $\Gamma_e = 6.186 \times 10^{-5} C_s / (1 + 64.30 C_s)$; $C_{NaCl} = 0.1 \text{ kmol/m}^3$; $\text{pH} = 3.0$; $L = 1.4 \text{ m}$; $G = 3.0 \times 10^{-6} \text{ m}^3/\text{s}$)

Fig. 3 Variation of dynamic surface excess against gas-liquid contact time interval

で示される。

$$d\Gamma/dt = k_1 k_a (C_b - (\Gamma / (a_1 - a_2 \Gamma))) / (k_1 + k_a) \quad (6)$$

$$k_1 k_a / (k_1 + k_a) = (d\Gamma/dt) / (C_b - (\Gamma / (a_1 - a_2 \Gamma))) = K \quad (6)-1$$

$$K(k_1 + k_a) = k_1 k_a \quad (6)-2$$

$$k_a = K k_1 / (k_1 - K) = X/Y \quad (7)$$

$$X = ((d\Gamma/dt) / (C_b - (\Gamma / (a_1 - a_2 \Gamma)))) \times k_1 \quad (7)-1$$

Fig. 4 Test of correlation between k_a and dynamic surface excess

$$Y = (d\Gamma/dt) / (k_1 - ((d\Gamma/dt) / (C_b - (\Gamma / (a_1 - a_2\Gamma))))) \quad (7)-2$$

k_1 の値は以下の二つの推算式 (Morgan *et al.*, 1992; Hughmark, 1967), Eqs. (8), (9) によった。

$$k_1 \delta_{\text{eff}} / D (\delta_{\text{eff}} = (D \bar{r}_b / \bar{v}_b)^{0.5}) \quad (8)$$

$$N_{\text{Sh}} = 2.0 + 0.061 (N_{\text{Re}})^{0.486} (N_{\text{Sc}})^{0.339} (\bar{d}_b g^{1/3} D^{2/3})^{0.072} \quad (9)$$

これらの式による気泡外境膜移動係数の推算値は互いに良好に一致した。

また水中の吸着成分 BSA の分子拡散係数, $7 \times 10^{-11} \text{ m}^2/\text{s}$ (Probstein and Shen, 1977) を用いて推算した。

Fig. 3 の各実験曲線より, Γ とこの Γ における $d\Gamma/dt$ が実験的に求まる。Eq. (8) あるいは Eq. (9) より決定した k_1 の値と上記の過剰量の時間勾配を Eq. (7) に用いて k_a と Γ との相関を試みた。この結果を Fig. 4 に示す。Fig. 3 の各曲線より得られる相関には差異が見られるが、図中に示す相関直線で曲線を代表した。

逆にこの相関線と推算した k_1 の値を Eq.(2) に用いて、気・液接触時間と過剰量との関係を計算により求めた。すなわち、Eq. (2) を独立変数を t , 従属変数を Γ とする微分方程式を解いた。逆計算線を Fig. 3 に点線で示した。点線は実験線を支持している。このことより、図中の平衡濃度範囲内であれば任意の濃度における接触時間と過剰量との関係が予測しうる。ここに示した速度式においては脱着過程を全く考えていないが、界面吸着速度係数と考えられる k_a は Γ の増加と共に急激に低下した。

最近この分離系において、特に泡沫相における濃縮に着目した報告 (Brown *et al.*, 1990) がある。また別の溶存蛋白質においてもこの等電点において過剰量が最大値を示す報告 (Maruyama and Suzuki, 1995) がある。溶

存蛋白質として牛血清ヘモグロビンを泡沫分離し過剰量と平衡濃度との関係を pH の関数として求めたものである。この実験結果においてもこの蛋白質の等電点において過剰量が最大となると結論している。また同じ結論を卵白アルブミン水溶液系泡沫分離においても報告している。

本研究結果もこれらと同じ傾向を示すことより本研究結果の健全性のある程度裏付けるものと言える。また全実験を通じて塔全体の吸着成分に関する物質収支は最大誤差 4% であった。

Nomenclature

a_1	= Langmuir constant	[m/s]
a_2	= Langmuir constant	[kg/m ³]
C_b	= bulk concentration	[kg/m ³]
$\bar{C}_b$	= mean bulk concentration	[kg/m ³]
C_F	= concentration of feed	[kg/m ³]
C_{Foamate}	= concentration of foamate	[kg/m ³]
C_{NaCl}	= concentration of supporting electrolyte	[kmol/m ³]
C_R	= concentration of raffinate	[kg/m ³]
C_s	= concentration in equilibrium with surface excess	[kg/m ³]
C'_s	= concentration just below gas-liquid interface	[kg/m ³]
$\bar{d}_b$	= arithmetic mean bubble diameter	[m]
D	= molecular diffusivity of protein	[m ² /s]
G	= gas flow rate	[m ³ /s]
g	= acceleration of gravity	[m/s ²]
k_a	= adsorption mass transfer coefficient	[m/s]
k_1	= liquid film mass transfer coefficient	[m/s]
N_{Re}	= Reynolds number	[-]
N_{Sc}	= Schmidt number	[-]
N_{Sh}	= Sherwood number	[-]
Q	= feed flow rate	[m ³ /s]
Q_1	= foamate flow rate	[m ³ /s]
Q_2	= raffinate flow rate	[m ³ /s]
$\bar{r}_b$	= mean bubble radius	[m]
U_g	= superficial gas velocity	[m/s]
$\bar{v}_b$	= mean bubble rise velocity	[m/s]
Γ	= dynamic surface excess	[kg/m ²]
Γ_e	= dynamic equilibrium surface excess	[kg/m ²]
δ_{eff}	= effective film thickness	[-]
ϵ_g	= void fraction	[-]

Literature cited

- Schweitzer, P. A., Ed., ; Handbook of Separation for Chemical Engineers, 2-183-2-197, McGraw-Hill, New York, USA (1979)
- Kagaku Benran, Kiso Hen, Vol. 1, p. 401, Nihonkagakukaihen, Maruzen, Tokyo, Japan (1984)
- Graham, D. E. and Phillips, M. C. ; "Protein at Liquid Interface, 1. Kinetics of Adsorption and Surface Denaturation," *J. of Colloid and Interface Sci.*, **70**, 403-414 (1979)
- Graham, D. E. and Phillips, M. C. ; "Protein at Liquid Interface, 2. Adsorption Isotherms," *J. of Colloid and Interface Sci.*, **70**, 415-426 (1979)
- Shinjikkenkagakukohza 20, Seibutsukagaku (Vol. 1), P. 230-297, Nihonkagakukaihen, Maruzen, Tokyo, Japan (1978)
- Morgan, J. D., Napper, D. H., Nicol, S. K. and Warr, G. G. ; "Kinetics of Recovery of Hexadecyltrimethyl-ammonium Bromide," *Langmuir*, **8**, 2124-2129 (1992)
- Hughmark, G. A. ; "Holdup and Mass Transfer in Bubble Columns," *Ind. Eng. Chem. Process Des. and Develop.*, **6**, 218-220 (1967)
- Probstein, R. F. and Shen, J. J. ; "On the Prediction of Limiting Flux in Laminar Ultrafiltration of Macromolecular Solutions," *Ind. Eng. Chem. Fundam.*, **16**, 459-465 (1977)
- Brown, L., Narsimham, G. and Wankat, P. ; "Foam Fractionation of Globular Protein," *Biotechnol. Bioeng.*, **36**, 947-959 (1990)
- Maruyama, H. and Suzuki, A. ; Preprints on the 28 th Autumn Meeting of the Soc. of Chem. Engrs., Japan, Hokkaido, No. 3, p. 60 (1995)

A Study on Adsorption of a Globular Protein Soluble in Water to a Bubble Surface

Katsuyuki Kubota, Takuya Fujikawa and Masaki Nakayama

Department of Chemical Science and Engineering, Kobe University, Kobe 657

Key Words: Adsorptive Bubble Separation, Globular Protein, Surface Excess, Adsorption Rate Equation

By using a bubble column a globular protein soluble in water was continuously floated at a pH value of 5.3 near isoelectric point in order to remove and concentrate it from its aqueous solution under the co-existence of a supporting electrolyte. The obtained experimental data were summarized in terms of the dynamic surface excess (surface density), and the relationship between the excess and the bulk concentration could be formulated by a Langmuir type equation. By varying the feed concentration and the column height the transient behaviours of the excesses were also examined, and the result could be formulated by the adsorption rate equations proposed by the present authors.