

報 文

大豆たんぱく質の凝固過程を利用する水中の微量金の濃縮と
原子吸光・発光分光分析による定量*

武者 宗一郎**, 高橋 芳久***

(1975 年 2 月 17 日受理)

大豆たんぱく質が酸などの添加により凝固する性質及び重金属イオンと錯体形成する性質を利用して、水中の微量の金を捕集濃縮することを検討した。試料水に一定量 {(10~30) ml} の豆乳 (6.34%) 及び凝固剤 δ -グルコノラクトン (δ -GL と略記) の所定量を加えて加熱し、たんぱく質を凝固させ金を捕集する。凝固物 (豆腐) を低温灰化後、原子吸光又は発光分光分析法により金を定量した。金の捕集率はたんぱく質の凝固が最もよく起こる pH 4.4~5.0 付近になるように適量の δ -GL を加えた場合、99% 以上の最大値を示した。本法を水、人工海水、食塩水及び食塩中の超微量の金の定量に応用し満足すべき結果を得るとともに、分析の実行に伴う環境汚染問題に関し、写真操作を除いて全く問題がない点を確認した。

1 緒 言

海水や天然水中の金の定量法として従来いくつかの報告^{1)~12)}があるが、その含有量が極微量であることと、試料中のマトリックス元素の妨害を除くために、分離や濃縮などの前処理を必要とする場合が多い。分離濃縮の手段として 2,5-ジアミノベンゼン-1,4-ジチオールとグリオキザルとの縮合物¹¹⁾やポリウレタンホームなどのカラムを用いるイオン交換法¹⁷⁾¹⁸⁾、活性炭吸着法¹⁹⁾、硫化鉛やテルル共沈法¹²⁾などの外に、2-メルカプトベンゾイミダゾール⁶⁾やビス-ベンズチアゾール⁸⁾、*p*-ジメチルアミノベンジリデンローダニン、ジチゾンなどの有機試薬を用いる共沈法¹⁰⁾²⁰⁾も最近重要視されている。

一方、著者らは大豆たんぱく質の凝固現象を利用する微量金属の捕集方法について報告した¹⁶⁾。

本研究では、この方法を水中の微量の金の捕集定量に応用するため原子吸光及び発光分光分析の技法を用いて基礎的に検討し、更に食塩中の微量の金の定量に応用し

た。また分析の実施に伴う環境汚染問題に関して写真操作以外全く問題がない点を強調した。

2 実 験

2.1 試 薬

金標準溶液：純金板 (和光純薬製, 99.00% 以上) 0.5 g を王水及び水に溶解し、1 mg/ml の溶液とする。これを原液とし、使用の都度適当に希釈して用いる。

豆乳：前報¹⁶⁾と同様にして調製 (固形分として 6.34 %)。

その他の試薬は特に断らない限り、試薬特級品をそのまま使用した。

2.2 装 置

原子吸光装置：Perkin-Elmer 社製原子吸光光度計 303 形に日立記録計 QPD 54 形を取り付けて使用した。光源に Westinghouse 社製金-銀中空陰極複合ランプを用い、バーナーには 10 cm 長さスロットバーナー (空気-アセチレン炎) を使用した。

発光分析装置などその他の装置は前報¹⁶⁾で使用したものと同一である。

2.3 凝固操作

金 0.01 μ g 以上を含む所定量の試料水 {約 (100~1000) ml} をビーカーに採り、これに一定量の豆乳 (10~50 ml) を加え、よくかき混ぜながら加熱し、約 70°C

* 大豆たんぱく質の凝固過程を利用する微量金属の濃縮方法に関する研究 (第 2 報)

** 大阪府立大学工学部応用化学科：大阪府堺市百舌鳥梅町 4-804

*** 花王石鹼株式会社産業科学研究所：和歌山県和歌山市湊薬種畑 1334

になった時所定量 {(0.70~3.50)ml} の δ -グルコノラクトン (以下 δ -GL と略記) 水溶液(0.1 g/ml)を加え, 更に加熱して沸騰させる. (2~3) 分間煮沸した後室温まで放置して凝固を完結させる (豆腐の生成).

2.4 凝固物 (豆腐) の処理及び分析操作

豆腐を前報¹⁶⁾と同様, 遠心分離して溶液部分 (ホエー) と分離し, 乾燥した後低温灰化した. 低温灰化時間を短縮する必要がある場合には, 乾燥前の豆腐に発ぼう剤として炭酸アンモニウム水溶液 (約 5%) 約 2 ml を加えてよく練り混ぜ, この混合物を 80°C 以上で加熱乾燥させ多孔性乾燥物とした後, これを低温灰化した. このように発ぼう処理することにより灰化時間を約 20% 短縮できた. ただし, 炭酸アンモニウムの使用に際して, あらかじめ発光分光分析により, その中に金が発見されないことを確認した.

(a) 原子吸光分析法による定量: 豆腐の灰化物を王水 2 ml 及び水に溶解し, 全量を 25 ml として, この溶液について金の原子吸光を測定する. 測定条件は波長 242.8 nm, ランプ電流 10 mA, 設定スリット幅 4 (1 mm), アセチレン設定流量 8.0 (8 psi), 空気設定流量 8.0 (30 psi) である.

(b) 発光分光分析による定量: 前報¹⁶⁾と同様, 豆腐の灰化物に同量の黒鉛粉末を混合した後, この粉末試料をカップ電極 (孔径 4 mm, 深さ 4 mm) にタッピング法で充てんし試料電極とした. 対極には先端を 90° に成形したグラファイト電極を用い, Table 1 の条件で直流アーク法により定量する.

Table 1 Experimental conditions for the determination of gold

Excitation source	DC-arc
Current	15 A
Exposure time	20 s, no-preburn
Analytical gap	2 mm
Slit width	15 μ m
Analytical line pair	Au(I) 267.595 nm/Fe(I) 267.908 nm
Atmosphere	Ar (60%)-O ₂ (40%) mixture
Gas flow-rate	4 l/min

3 結果と考察

3.1 捕集条件の検討

3.1.1 捕集率と pH の関係 金 450 μ g を含む水溶液 100 ml に豆乳 10 ml を加え, これに δ -GL の添加量を種々変化させて加え, 以下 2.3 の操作に準じて豆腐を作り, 捕集された金を 2.4 の操作に準じて原子吸光

法により測定した. その結果, Fig. 1 に示したように捕集率は凝固時の pH が 4.4~5.0 付近で最大値を示した. これは大豆たんぱく質の最適凝固 pH 領域¹⁶⁾ とよく一致する. つまり, 金は凝固の最もよく起こる pH 領域で最もよく捕集される.

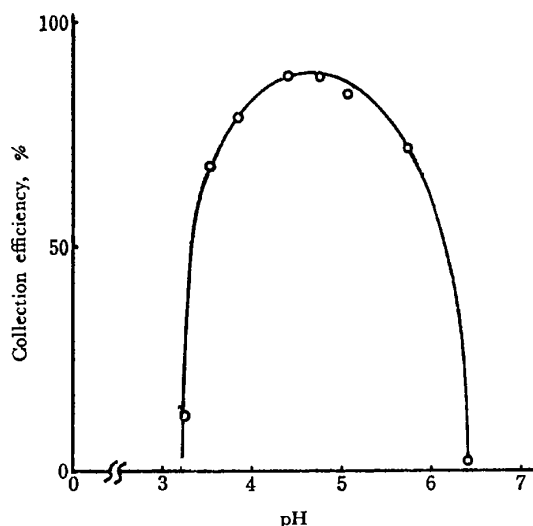


Fig. 1 Relationship between pH and the recovery of gold

Sample solution (Au: 4.5 ppm): 100 ml; Soybean milk: 10 ml; pH was adjusted by adding the varying amounts of δ -gluconic lactone solution (0.1 g/ml)

金の捕集機構については, Ag^+ や Hg^{2+} ^{21,22)} などと同様に主にたんぱく質のメルカプト基などの側鎖と配位結合するものと考えられるが, 詳細は不明である.

3.1.2 豆乳量と捕集率並びに回収率との関係

a) 捕集率の測定: 金 450 μ g を含む水溶液 100 ml に種々の量の豆乳を加え, これに最適凝固の起こるように適量の δ -GL を加えて凝固させ, 以下 2.4 の操作に準じて原子吸光法により, 豆腐灰化物の王水溶液 (25 ml) の吸光度を測定する. 一方, 金を含まない蒸留水 100 ml について試料と同様に操作して得られた豆腐に, 試料と全く同量の金 450 μ g を添加した後, 低温灰化し, 以下試料と同様に処理して, その灰化物の王水溶液 (25 ml) の吸光度を測定し, その両液の吸光度を比較することにより捕集率を求めた.

b) 回収率の測定: 金 450 μ g を含む水溶液 100 ml について, 捕集率を求めた場合と同様に操作して, 豆腐灰化物の王水溶液 (25 ml) の吸光度を測定する. 一方, 金を含まない蒸留水 100 ml について同様に操作して得られた豆腐を低温灰化した後, これに試料と同量の金 450 μ g を添加し, 以下試料と同様に操作し, 吸光度を測定し, その両者の吸光度を比較することにより回収率を

求めた。

これらの結果を Fig. 2 に示す。豆乳添加量が(5~10) ml の範囲で捕集率及び回収率はわずかに低下する傾向が見られるが、20 ml 以上ではほとんど一定の捕集率 99.2% と回収率 95.5% を示した。回収率が捕集率より低いのは、低温灰化時に金の一部が揮散する¹⁴⁾ためと考えられる。

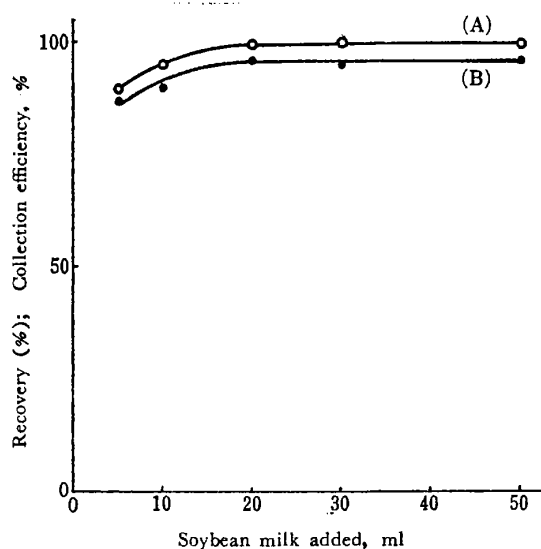


Fig. 2 Relationship between the amounts of soybean milk and the recovery and the collection efficiency of gold

(A) Collection efficiency (%); (B) Recovery (%)

3.1.3 検量線 濃度の異なる金標準溶液 100 ml に豆乳 10 ml を加え、以下 2.3 及び 2.4 の操作に準じて捕集した金の王水溶液の吸光度と濃度との関係求めた。検討した濃度範囲 {(0.90~11.25) ppm} 内で良い直線性を示す検量線が得られた。

3.1.4 捕集に及ぼす塩化ナトリウムの影響 この捕集濃縮法を海水などに応用する際の塩化ナトリウムの濃度に関し、そのマトリックス効果を検討した。

金 4.5 ppm を含む種々の濃度の塩化ナトリウム水溶液 (0~35%) に豆乳 20 ml を加え、以下 2.3 及び 2.4 の操作に準じて捕集定量した。結果を Fig. 3 に示す。塩化ナトリウムは捕集率を少し低下させる傾向をもつが、これは塩化ナトリウムが大豆たんぱく質の可溶化を促進させる作用をもつ¹⁵⁾ため、凝固すべきたんぱく質の一部が溶解したためと考えられる。

3.2 発光分光分析による水、食塩水及び人工海水中の微量の金の定量

海水^{1)~9)}や温泉水¹²⁾などの天然水¹⁰⁾¹¹⁾に含まれる ppb

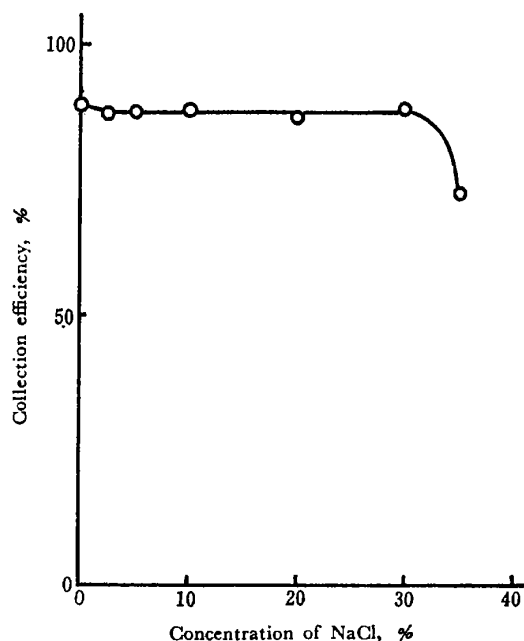


Fig. 3 Effect of NaCl concentration in sample solution on the recovery of gold

Sample solution (Au: 4.5 ppm): 100 ml; Soybean milk added: 20 ml

オーダーの超微量の金の捕集定量法を検討した。ただし、検出定量は、前述の空気-アセチレン炎を用いる原子吸光分析の条件下では所期の感度が得られなかったため、粉末直流アーク法による発光分光分析で行った。

3.2.1 分析操作 (0.01~1) ppb の金を含む水、3% 食塩水及び人工海水各 1 l に豆乳 30 ml を加え、以下 2.3 及び 2.4 の操作に準じて凝固及び灰化处理した後、発光分光分析する (Table 1)。ただし、人工海水の場合は、これをあらかじめ希塩酸で中和した後、凝固させた。

アーク柱に紫外線照射し、スリット結像法により撮影した。なお、使用した内標準元素は豆腐に含有されている鉄 (267.908 nm の輝線) である。スペクトル線黒度をザイデル黒度に変換し、バックグラウンド補正を行った。

なお、人工海水は Lyman-Fleming の海水組成表¹⁶⁾により調製した。

3.2.2 検量線及び精度 3.2.1 の操作に従って得られた検量線の 1 例を Fig. 4 に示す。水、3% 食塩水及び人工海水中の 0.01 ppb 程度の微量の金が検出され、いずれの場合も、検量線はよい直線性を示した。

3% 食塩水について行った同一試料について 7 回繰り返し分析し、その分析精度を求めた結果、その変動係数は、0.01 ppb の場合 44.9%, 0.1 ppb の場合 21.5%, 1.0 ppb の場合 9.6% であった。

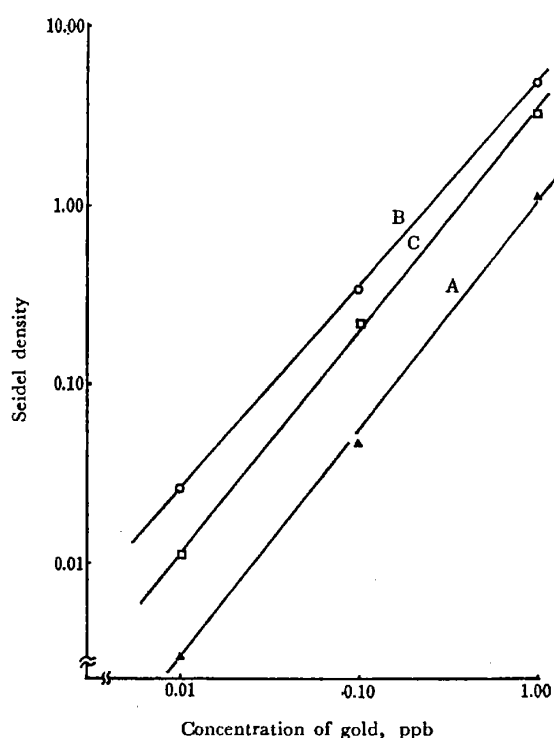


Fig. 4 Working curves for gold by means of emission spectrography

A: Water; B: 3% NaCl solution; C: Artificial sea water

3.3 食塩中の微量の金の定量への応用

本法をわれわれが食用として用いる、いわゆる食塩中の微量の金の定量に応用し、標準添加法による発光分光分析法により検出定量した。

試料食塩約 140 g をひょう取し、蒸留水に加温溶解しこれを濾過して不溶性のきょう雑物を除去した後、水でうすめて全量を 1 l とした。この試料溶液を 250 ml (試料食塩 35 g に相当) ずつ 4 等分して、500 ml ビーカーに移す。これらに 0.01 ppm 金標準溶液を各々 0, 2, 5, 10 ml のアリコートとして添加し、以下 3・2・1 の操作に準じて標準添加法により金を定量した。

分析結果を Table 2 に示す。なお、試料中、能登産

の揚げ浜塩とは、今日なお、観光用として保全されている塩田産の食用塩である。シャークベイ産塩は西オーストラリア、シャークベイ・パース北方 480 マイルの Shark Bay 結晶池産のものである。天塩はメキシコ産の天日塩を溶かし、これに天然にがり(中国産)を混ぜ、改めて鉄がまで結晶させたものである(赤穂化成株式会社製)、食塩とは日本専売公社発売の“食塩”である。

Table 2 Analytical results of gold in common salts

Common salts	Gold found (ppb)
Agehama salt, Noto	2.6†
Shark Bay salt	2.3†
Amashio salt	2.3†
Kitchen salt	1.9

† Filtrate of common salt aqueous solution

一方、海水中の金の含有量は Table 3 に示すように試料海水の採取場所などの相違により、かなりのばらつきが見られる。

ちなみに、0.068 ppb の金を含む海水⁶⁾がそのまま濃縮され乾燥されたと仮定すると、こうして得られる海塩中には約 2 ppb の金が含まれることになる。本研究による食塩中の金の分析結果はオーダーの上からこの値に近い妥当な数値であると考察する。

4 結 論

大豆たんぱく質の凝固現象を利用して、水中の微量の金を捕集濃縮し、原子吸光分析及び発光分光分析の技法を用いて定量する方法を提案した。

本法の特徴は、試料水に少量の豆乳及び所定量の δ -GL を加えて加熱し、試料水中で大豆たんぱく質を凝固させて豆腐を作り、この豆腐に捕集濃縮された金を原子吸光または発光分光分析法により定量するという、比較的簡単な操作で濃縮できるという点である。また、本法で使用した主要試薬類は写真現像定着関係を除き、大部

Table 3 The gold content of sea water

Range of values found (ppb)	Investigator	Remarks
3 to 20	M. Yasuda ¹⁾	Samples taken from Japanese coastal waters, not far from the Ramapo Depth
Maximum, 0.1 to 0.2	W. E. Caldwell ⁴⁾	Samples were taken from Puget Sound and the Oregon coast
0.02 to 2.0	W. Stark ²⁾	Highest values were found off the Iberian coast
5.1 to 4.4	G. L. Putnum ³⁾	Samples taken from Copalis Beach, and Muting Bay, Washington
0.015 to 0.4	R. W. Humel ⁵⁾	Samples taken from Portland, Polymouth and Bay of Biscay
0.009	R. R. Brooks ⁷⁾	Samples taken from Cape Town coast
0.068	H. V. Weiss, et al. ⁶⁾	Samples taken from the San Francisco coast
0.014	E. Bayer ⁸⁾	Samples taken from the Neapol Bay
0.006 to 0.43	Y. Oka, et al.	Samples taken from Japanese coastal waters

分が食用に供されるものであり, 分析の実施に伴う試薬類の廃棄や投棄に関する環境汚染のおそれが全くない点が最も重大な特色である. なお, アセチレンは食用にはならないが, 最終生成物は完全に水と二酸化炭素になってしまうので差し支えない. 装置の関係上, やむなく写真法によったが, もし光電測光法で実施すれば化学分析の全行程は無公害分析法というにふさわしいであろう.

(1974 年 4 月, 日本化学会第
30 春季年会において一部発表)

文 献

- 1) M. Yasuda : *Bull. Chem. Soc. Jap.*, **2**, 321 (1927).
- 2) W. Stark : *Helv. Chim. Acta*, **26**, 424 (1943).
- 3) G. L. Putnam : *J. Chem. Educ.*, **30**, 576 (1953).
- 4) W. E. Caldwell : *ibid.*, **15**, 507 (1938).
- 5) R. W. Hummel : *Analyst*, **82**, 483 (1957).
- 6) H. V. Weiss, M. G. Lai : *Anal. Chim. Acta*, **28**, 242 (1963).
- 7) R. R. Brooks : *Analyst*, **85**, 745 (1960).
- 8) E. Bayer : *Angew. Chem.*, **76**, 76 (1964).
- 9) 岡 好良, 加藤豊明, 佐々木三千夫 : 日化, **85**, 643 (1964).
- 10) T. S. Korganova, V. A. Polyakov : *Sovrem. Methody Issled. Gidrogeol. Inzh. Geol.*, **1974**, 84 (1970); *CA*, **76**, 299.
- 11) A. Zlatkis, W. Bruening, E. Bayer : *Anal. Chem.*, **41**, 1692 (1969).
- 12) 古賀昭人 : 日化, **82**, 1476 (1961).
- 13) 渡辺篤二 : 油化学, **12**, 14 (1963).
- 14) 黄金旺, 樋口英雄, 浜口 博 : 本誌, **22**, 1586 (1973).
- 15) G. Lyman, R. H. Fleming : *J. Marine Research*, **3**, 136 (1940).
- 16) 武者宗一郎, 高橋芳久 : 本誌, **24**, 365 (1975).
- 17) P. Schiller, G. B. Cook : *Anal. Chim. Acta*, **54**, 364 (1971).
- 18) T. Braun, A. B. Farag : *ibid.*, **65**, 115 (1973).
- 19) 氏平裕輔 : 日化, **84**, 642 (1963).
- 20) 日本分析化学会編 : “分析化学便覧”, p. 133 (1971), (丸善).
- 21) 田村霍央 : 工化, **66**, 1224 (1963).
- 22) I. M. Klotz (今堀和友訳) : “蛋白質化学”, 水島三一郎, 赤堀四郎編, 4 巻, p. 47 (1956), (共立出版).

☆

Enrichment of trace amounts of gold in water utilizing the coagulation of soybean protein and

its determination by atomic absorption spectrometry and emission spectrography. (Studies on the enrichment of trace metals utilizing the coagulation of soybean protein. II.) Soichiro MURAHARA* and Yoshihisa TAKAHASHI** (*Department of Applied Chemistry, Faculty of Engineering, University of Osaka Prefecture, Mozuume-machi, Sakai-shi, Osaka; Industrial Research Laboratories, Kao Soap Co., Ltd., 1334, Minato-yakushubata, Wakayama-shi, Wakayama)

An enrichment procedure for trace amounts of gold in water utilizing the coagulation of soybean protein by adding acids or salts (calcium, magnesium, etc.) and its complex-forming character with heavy metal ions were investigated.

After adding fixed amounts of soybean milk (collector) and δ -gluconic lactone (coagulant) to a sample solution, the mixture was heated to boiling in order to coagulate the protein. The coagulum (soybean curd) was separated from the suspension with a centrifuge and burned to ashes with a low temperature plasma asher. Then the gold collected in it was determined by means of the atomic absorption and emission spectrographic methods. Effects of pH, the amounts of soybean milk added, and the concentration of NaCl in the sample solution on the recovery of gold were examined systematically. The best result was obtained under the following conditions: To a certain amount of sample containing more than 0.01 μ g of gold, (20~50) ml of 6.34% soybean milk was added and its pH was adjusted to 4.4~5.0 by adding the suitable amounts of δ -gluconic lactone. This pH range corresponded to the optimum pH for the coagulation of soybean protein. The recovery of gold was 99% or better. NaCl in the sample solution tended to decrease slightly the recovery of gold. The proposed method was applied to the determination of gold at the order of (0.01~1)ppb in the sample solutions such as water, 3% NaCl water and artificial sea water. This method was also applied to the determination of gold in common salts.

(Received Feb. 28, 1975)

Keywords

Atomic absorption spectrometry

Emission spectrography

Gold enrichment

Soybean protein coagulation