

ステンレス鋼表面の洗浄性に及ぼす加熱処理の影響

高橋和宏・福崎智司

Kazuhiro TAKAHASHI and Satoshi FUKUZAKI

キーワード 加熱処理/ステンレス鋼/洗浄性/タンパク質汚れ/アルカリ洗浄
KEY WORDS Heat treatment/Stainless steel/Cleanability/Proteinous soil/Alkali cleaning

要 旨

ステンレス鋼の洗浄性に及ぼす 100°C から 500°C の加熱処理の影響をステンレス鋼微粒子とタンパク質を用いたモデル実験により調べた。100°C から 200°C の加熱処理を行うと、タンパク質汚れの吸着量は減少傾向にあったが、300°C 以上の加熱処理により増加へと転じた。また、300°C 以上の加熱処理により、ステンレス鋼表面からのタンパク質汚れの離脱速度は低下し、2 時間洗浄後のタンパク質汚れの残存量が増加した。300°C 以上の加熱処理による洗浄性の低下は、鉄が豊富で表面水酸基が減少した表面酸化皮膜の形成に起因すると考えられた。

1 はじめに

ステンレス鋼は耐食性が高く、生化学プラント、医薬品製造装置、食品製造機械、マイクロリアクターなどで広く用いられている。これらの装置表面は、運転中（例えば熱交換機）あるいは微細加工時（例えばマイクロ流路）に高温環境にさらされ、ステンレス鋼の表面化学組成が変化すると考えられる。また、これらの装置は、繰り返し利用するため、洗浄する必要があるが、有機物の吸脱着特性とステンレス鋼の加熱処理の関係に関する研究例は少ない。

本研究では、ステンレス鋼の洗浄性に及ぼす加熱処理の影響を表面化学組成、表面水酸化度、表面電荷の観点から評価した。

2 実験方法

2.1 実験材料

被洗浄体として、㈱ニラコ製 SUS316L ステンレス鋼粒子（比表面積 0.38m²/g、8-10μm）を用いた。モデル汚れとして、ナカライテスク(株)製、牛血清アルブミン（結晶; Lot M9B4259）を用いた。

2.2 加熱処理

ステンレス鋼粒子は使用前にアセトン、エタノールを用いて超音波洗浄（15 分間）を行い、150°C で 4 時間乾燥させた。上記ステンレス鋼粒子 20g を磁製蒸発皿に入れ、100°C から 500°C で 4 時間の加熱処理を行った。室温まで放冷した後、50ml 容のガラス製遠沈管に移し、30ml の純水で 3 回濯いだ。その後、40°C で 24 時間乾燥させた。

2.3 BSA の吸着

吸着実験は 10⁻³M KNO₃ 存在下で行った。BSA 溶液を見掛けの零電荷点である pH5.0 に調整し、ステ

ンレス鋼粒子と共にガラス製バイアルに入れ、40°C で 2 時間吸着させた¹⁾。

BSA が飽和吸着したステンレス鋼粒子 (Γ_{sat}) は、1g のステンレス鋼粒子と 5ml の BSA 溶液(5g/l)を用いて調整した。BSA の吸着量は、0.1M の NaOH 溶液による 2 時間の回分洗浄により離脱した BSA 量と残存した BSA 量 (S_r) を Lowry-Folin 法で求め、その和により求めた²⁾。

初期吸着量 (Γ_0) は洗浄速度に影響を及ぼす。そこで、連続式洗浄実験には 0.1g/l の BSA 溶液と 1g のステンレス鋼粒子を用いて上記と同様に吸着を行い、BSA の初期吸着量をそろえた ($\Gamma_0 = 約 1.3 \pm 0.1 \text{ mg/m}^2$)。

2.4 洗浄実験および洗浄曲線の解析

BSA が吸着したステンレス鋼微粒子 1g をステンレス鋼製カラム (4mmφ×50mm)に充填し、カラム底部より 0.1M NaOH を 0.25ml/min の速度で送液し、離脱 BSA 量および残存 BSA 量を Lowry-Folin 法で定量した。洗浄実験の結果を横軸に時間、縦軸に BSA の残存量の対数値をプロットし洗浄曲線を得た。洗浄曲線は、洗浄初期に速い脱着速度で離脱する領域と洗浄後期に遅い脱着速度で離脱する領域が存在する。そこで、洗浄曲線を 2 つの 1 次脱着反応の和として解析する以下のモデル式を適合させ解析した³⁾。

$$\ln = \ln \{ \exp(\ln \Gamma_0^f - k^f t) + \exp(\ln \Gamma_0^s - k^s t) \} \quad (1)$$

ここで、 Γ_0^f 、 Γ_0^s はそれぞれ任意の洗浄時間 (t) における BSA の吸着量、速い速度で脱着する BSA 分子 (BSA^f) の初期吸着量、遅い速度で脱着する BSA 分子 (BSA^s) の初期吸着量を意味する。 k^f 、 k^s は、それぞれ BSA^f 、 BSA^s の一次の脱着速度定数を意味する。

2.5 表面分析

ステンレス鋼粒子表面の化学組成を分析するため

に、単色化 Al α 線(300W, 12kV)を用いた X 線光電子分光 (XPS) 分析を行った (日本電子 ; JPS-9200)。XPS 分析には、20 MPa で 2 分間プレスし板状 (直径 13mm \times 1mm) に成型したステンレス鋼粒子を用いた。得られたスペクトルは C 1s(284.7eV)で帯電補正を行った。見掛けの表面電荷密度 (σ_{app}) および零電荷点 (pzc $_{app}$) は電位差滴定法により算出した²⁾。また、25 $^{\circ}$ C における水蒸気吸着等温線より表面水酸基数を算出した²⁾。

3 結果

3.1 加熱処理を施したステンレス鋼粒子の特徴

ステンレス鋼粒子に 300 $^{\circ}$ C 以上の加熱処理を施すと、シルバー色であったステンレス鋼の色が、ライトブロンズ (300 $^{\circ}$ C)、ブロンズ (400 $^{\circ}$ C)、バイオレット (500 $^{\circ}$ C) へと変化したことより、ステンレス鋼の表面化学組成および酸化皮膜の膜厚に変化があったことが推察される。表 1 にステンレス鋼表面の化学組成および加熱処理の影響について示す。鉄とクロムと酸素が酸化皮膜中の主要元素であった。加熱温度が 100 $^{\circ}$ C から 500 $^{\circ}$ C に増加すると、表面の鉄の濃度が 6%から 11%へと増加した。図 1 に加熱処理を施したステンレス鋼粒子の XPS スペクトルを示す。すべての試料において、Fe2p3/2 と Cr2p3/2 のピークはそれぞれ Fe $_2$ O $_3$ と Cr $_2$ O $_3$ のピークと一致していた⁴⁾。図 1A(a)のスペクトルに見られる 706.8eV のピークは金属の Fe に相当し、このピークは加熱処理により消失した。O1s のピークは 530.0 \pm 0.2eV (M-O-M ; M は金属) と 531.3 \pm 0.25eV (M-OH) の間に位置していたが、加熱処理により M-OH のピークが減少し、M-O-M へと変換することが確認された⁵⁾。これらのことより、300 $^{\circ}$ C 以上の加熱処理により、不動態皮膜は Fe $_2$ O $_3$ が豊富な酸化皮膜へ変化したことが示唆された。

加熱処理を施したステンレス鋼表面の水酸化度

を調べるために水蒸気吸着等温線を測定した。図 2 に、水蒸気吸着等温線を BET 解析した結果得られた水分子の単分子吸着量 (V_m : ml/m 2) および吸着分子数 (N_m : 分子数/nm 2) を示す。100 $^{\circ}$ C から 500 $^{\circ}$ C に加熱温度を増加させると V_m は 0.31 から 0.21ml/m 2 まで減少した。

これは、 N_m が 7.5 から 5.1 分子/nm 2 に減少したことに相当する。1 つの水分子が 2 つの表面水酸基に配位すると考えると、100 $^{\circ}$ C から 500 $^{\circ}$ C の加熱処理により表面水酸基数は 15 から 11 水酸基/nm 2 に減少したことになる。

図 3 に加熱処理と σ_{app} の関係について示す。100 $^{\circ}$ C から 500 $^{\circ}$ C の加熱処理によりステンレス鋼表面の pzc $_{app}$ は 9.2 から 6.7 へと酸性の pH に変化した。また、正と負の表面電荷は温度に依存して減少した。これらの変化は、加熱温度に依存した表面元素組成の変化と表面水酸基の脱水縮合に起因すると考えられる。

表 1 加熱処理を施したステンレス鋼粒子の表面化学組成

処理温度 ($^{\circ}$ C)	Component (atom %)				
	Fe	Cr	Ni	O	C
100	6.1	6.6	ND ^a	64.7	12.3
150	6.3	6.4	ND	65.2	12.3
200	7.0	6.3	ND	65.7	12.1
300	8.5	4.6	ND	65.1	13.5
400	10.8	3.2	ND	67.7	13.1
500	10.5	4.2	ND	66.6	13.7

^aND: not detected.

No argon ion etching was conducted.

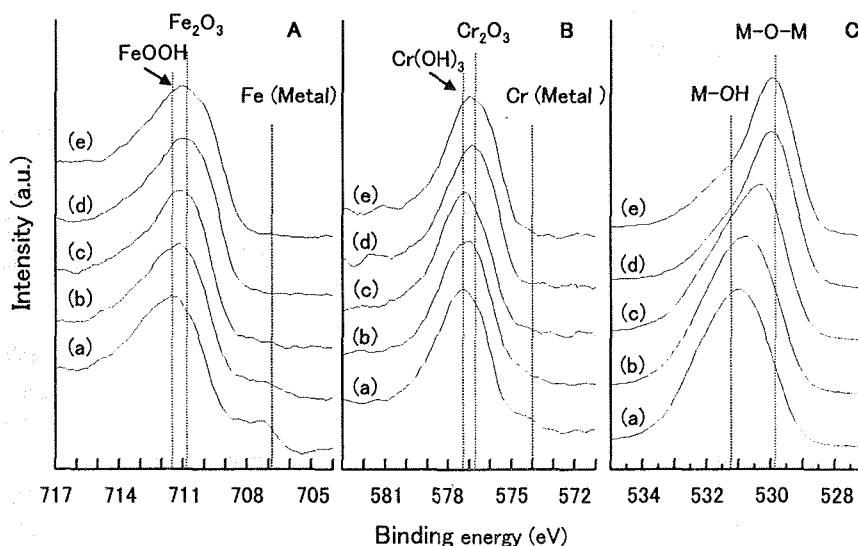


図1 加熱処理を施したステンレス鋼粒子のX線光電子分光スペクトル (A), Fe2p, (B), Cr 2p, (C), O 1s (a) 100 $^{\circ}$ C, (b) 200 $^{\circ}$ C, (c) 300 $^{\circ}$ C, (d) 400 $^{\circ}$ C, (e) 500 $^{\circ}$ C

3.2 BSA の吸着

BSA の飽和吸着量 (Γ_{sat}) に及ぼすステンレス鋼の加熱処理温度の影響について調べた。BSA 分子間の静電的相互作用を最小にするために BSA の pzc_{app} である pH5.0 で吸着実験を行った。この pH において実験に用いたすべてのステンレス鋼粒子は正電荷を帯びていた。図 4 に BSA の飽和吸着量および回分洗浄後の BSA の残存量に及ぼす加熱温度の影響について示す。100°C の加熱処理を施したステンレス鋼粒子では Γ_{sat} (3.7mg/m²) であったが、200°C までの加熱処理により Γ_{sat} は徐々に減少した。そして 300°C 以上の加熱処理では σ_{app} は減少傾向にあったにもかかわらず Γ_{sat} は加熱温度に依存して増加した。

今回の実験で用いた加熱処理を施したステンレス鋼粒子に対する BSA の吸着は 10⁻³M KNO₃ による濯ぎの際に離脱しなかったことより、不可逆吸着であったと考えられる。0.1M NaOH を用いた回分洗浄後の BSA 残存量 (S_r) は 200°C から 500°C の加熱温度の上昇に伴い増加した。

3.3 加熱処理ステンレス粒子の洗浄性

これまでの研究で、洗浄速度は BSA の表面初期濃度に依存することがわかっている¹⁾。そこで、加熱処理ステンレス鋼粒子の洗浄性を評価するため、BSA の初期吸着量 (Γ_0) を一定 ($\Gamma_0 = 1.3 \pm 0.1 \text{ mg/m}^2$) にそろえて洗浄実験を行った (図 5)。100°C から 200°C の加熱処理はステンレス鋼の洗浄性にほとんど影響を及ぼさなかったが、300°C 以上の加熱処理により洗浄性の低下が認められた。300°C 以上の加熱処理は 200°C 以下の加熱処理の場合と比べて、洗浄速度の低下と 2 時間洗浄後の残存量 (Γ_r) の増加をもたらした。また、図 5 のデータを (1) 式により解析し、実線で表された洗浄曲線と図 6 に示した洗浄速度定数を得た。100°C から 200°C の加熱処理を施した場合、洗浄速度定数には大きな変化が見られなかったが、400°C から 500°C の加熱処理により洗浄速度定数は大きく変化した。300°C 以上の加熱処理により Γ_0 の割合が増加し、 k^f と k^d 値も 1.2-1.5 倍小さくなった。これらの結果より、400°C 以上の加熱処理により洗浄性の低下が顕著であることがわかった。

4 考察

今回得られた結果は、ステンレス鋼の洗浄性が温度に依存した加熱処理の影響を受けることを示す。400°C から 500°C の加熱処理を施したステンレス鋼粒子は、100°C から 200°C で加熱処理を施したステンレス鋼粒子と比べて、BSA の吸着親和性が高くかつ洗浄性が低下した表面状態になっていた。400°C 以上で加熱したステンレス鋼粒子表面は Fe₂O₃ が豊富で表面水酸基が少なく、また、 σ_{app} の絶対値が小さい不動態皮膜へと変化していた。低温と高温で加熱処理を施したステンレス鋼粒子の洗浄性の違いは、上で述べた表面状態変化によるものと考えられる。

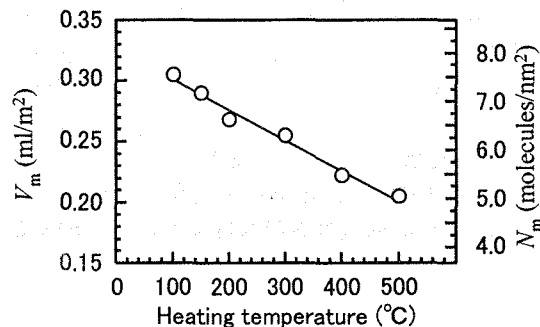


図2 加熱処理を施したステンレス鋼粒子への水分子の単分子吸着量 (V_m) および表面水酸基数 (N_m)

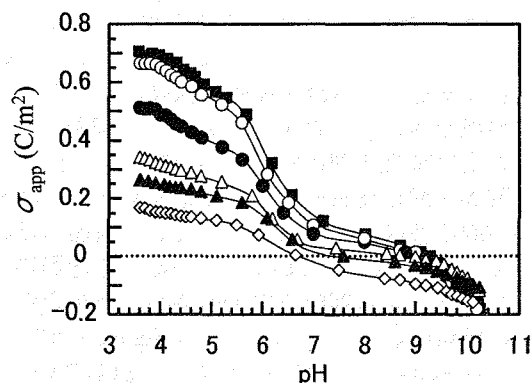


図3 ステンレス鋼粒子の表面電荷密度に及ぼす加熱温度の影響 シンボル: ■, 100°C, ○, 150°C, ●, 200°C, △, 300°C, ▲, 400°C, ◇, 500°C

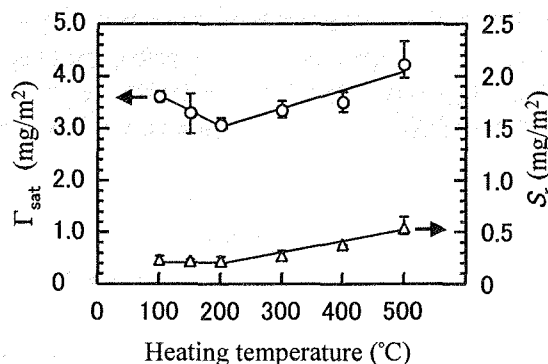


図4 BSA の飽和吸着量 (Γ_{sat}) および回分洗浄後の残存量 (S_r) に及ぼす加熱温度の影響 シンボル: Γ_{sat} (○), S_r (△)

加熱処理を施したステンレス鋼粒子の Γ_{sat} は 3.1 から 4.2 mg/m² の範囲であり、Norde ら⁶⁾ が報告している単分子吸着で吸着した BSA の最大吸着量である 4mg/m² と同程度かそれより低い。また、BSA の吸着は不可逆であったことより、加熱処理を施したステンレス鋼粒子に吸着した BSA は表面に直接吸着していたと考えられる。100°C から 200°C で加熱処理を施したステンレス鋼粒子の表面化学組成には大きな変化は見られなかったが、pH5.0 における σ_{app} の減

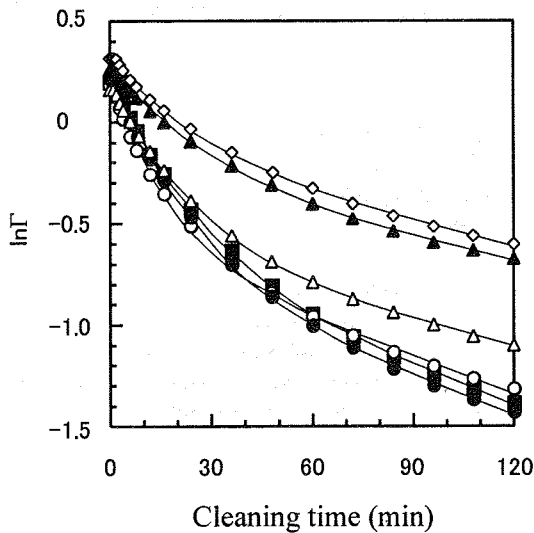


図5 ステンレス鋼粒子の洗浄に及ぼす加熱温度の影響 シンボル: (■), 100°C; (○), 150°C; (●), 200°C; (△), 300°C; (▲), 400°C; (◇), 500°C

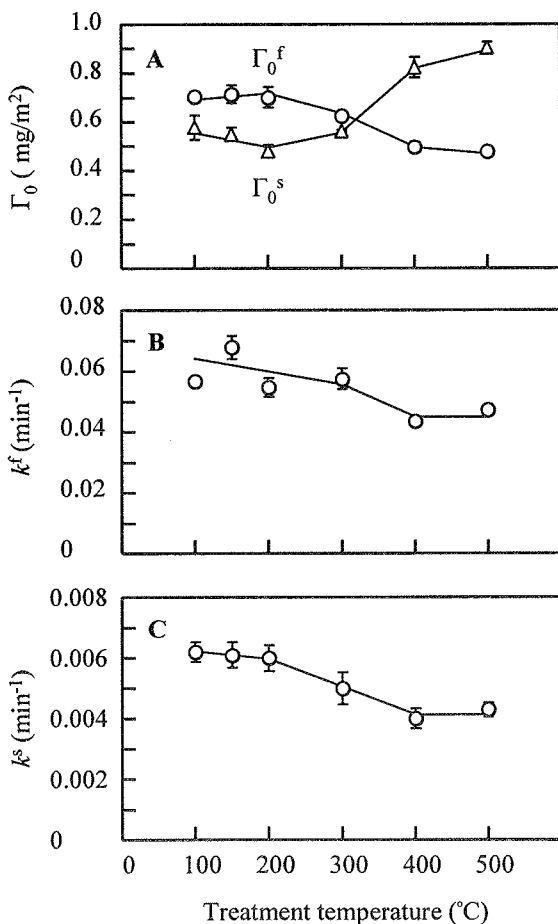


図6 図5と(1)式より算出した洗浄速度定数 (A) Γ_0^f and Γ_0^s , (B) k^f , (C) k^s

少とそれに比例した Γ_{sat} の減少が確認された。BSAはステンレス鋼表面の正電荷を持つ吸着サイト($M-OH_2^+$)にカルボキシル基を向けて吸着することがわかっている⁷⁾。著者らはこれまでの研究で、ステ

ンレス鋼粒子表面へのクロム濃縮を伴う場合、伴わない場合ともに吸着 pH における正の σ_{app} と BSA の吸着量との間に相関があることを明らかにしてきた^{2),8)}。それゆえ、 σ_{app} の減少にともない BSA の吸着量が減少したことは予想可能であった。しかし、300°C 以上の加熱処理を施した場合、 σ_{app} が減少しているにもかかわらず、 Γ_{sat} と S_r が加熱温度に依存して増加しており、100°C から 500°C の範囲では、 Γ_{sat} と σ_{app} 、 S_r と σ_{app} の間に相関は得られなかった。これらのことより、表面の化学組成が大きく変化する場合、 σ_{app} は Γ_{sat} を決定する主たる要因ではないことが分かる。

これまでの研究で 10%の硝酸溶液で不動態化処理を施し、表面にクロムを濃縮(鉄は減少)したステンレス鋼表面への BSA の飽和吸着量は 1.6mg/m²であることがわかっている¹⁶⁾。本研究では、300°C 以上の加熱処理を施すと、表面への鉄の濃縮(クロムの減少)とともに Γ_{sat} が増加している。これらのことにより、 Γ_{sat} は σ_{app} よりも表面化学組成に依存することが示唆された。

BSA の洗浄曲線の速度論的解析により、400°C 以上の加熱処理による脱着速度定数 k^f と k^s が低下し、 Γ_0^s と Γ_r が増加した。また、 Γ_r は S_r とよく一致した。今回の洗浄実験は、プラグフローカラムを用いて 0.1M NaOH 溶液を線速度約 0.33mm/s で送液しており、カラム内での剪断力は非常に弱く、NaOH 溶液は BSA とステンレス鋼表面の物理化学的結合力を減少させる働きのみを持つと考えられる¹⁾。それゆえ洗浄性は、表面と BSA との吸着親和性を反映すると考えられる。400°C 以上の加熱処理により形成された Fe₂O₃ が豊富な不動態皮膜は、200°C 以下で加熱処理したステンレス鋼粒子表面の不動態皮膜と比べて pH5.0 における正の σ_{app} は低いが、BSA に対する吸着親和性が高いと考えられる。親水性のステンレス鋼に対するタンパク質の吸着は通常、静電的であるとされる。一方、タンパク質のカルボキシル基は、クーロン力よりも作用力が大きく、共有結合や配位結合などの非静電的相互作用にも重要な役割を果たす^{3),9)}。分子量の小さな有機酸のカルボキシル基は針鉄鉱(ゲータイト; α -FeOOH)に吸着する時に内圏錯体を形成することが報告されている^{10),11),12)}。内圏錯体はカルボキシル基の 1 つあるいは複数の酸素原子がゲータイトの鉄原子に直接配位し、外圏錯体などの静電的相互作用よりも結合力が強い。現在のところ、明確な考察は出来ないが、不動態皮膜中の Fe₂O₃ が豊富であることにより BSA はステンレス鋼表面と強い相互作用を持ち、その結果、 Γ_0^s の増加と洗浄性の低下をもたらしたと推察される。

Fe₂O₃ の増加以外の洗浄性の低下の原因として、ステンレス鋼の表面水酸基の減少が考えられる。NaOH による洗浄において洗浄力の主体である水酸化イオン(OH⁻)は、ステンレス鋼粒子とそれに吸着した BSA 分子の両方に吸着し、ステンレス鋼と BSA は共に負に帯電する。その結果、ステンレス鋼と BSA との吸着親和性が低下する。親水性固体表面-水界面およびタンパク質-水界面では OH⁻ イオンは一種の活

性作用を持つ¹³⁾。400°C と 500°C で加熱したステンレス鋼粒子表面は、酸性および塩基性 pH 領域で σ_{app} の絶対値が低く、かつ、表面が脱水酸化している (図 1、2、3)。これらのことは、H⁺や OH⁻の吸着サイトとなる表面水酸基が少なくなっていることを意味する。加熱処理により脱水酸化したステンレス鋼粒子表面は OH⁻の吸着サイトが減少しているため NaOH 溶液による洗浄過程 (pH13) においても、表面への OH⁻の吸着量が減少していることが予想される。そのため BSA とステンレス鋼粒子間の静電的斥力が減少し洗浄性が低下したと考えられる。Karlsson ら^{14),15)}は 20%硝酸処理を施した 316L ステンレス鋼に吸着した β -ラクトグロブリンを、0.25M NaOH 溶液で洗浄したときの離脱挙動を調べている。彼らは、硝酸によるステンレス鋼表面の不動態化処理は、洗浄性を低下させることを示した。著者らも 10%硝酸処理により表面に Cr₂O₃ を濃縮したステンレス鋼粒子 (316L) の洗浄性が、硝酸処理前と比べて低いことを報告している¹⁶⁾。この硝酸処理を施したステンレス鋼粒子の σ_{app} は 400°C で加熱処理を施したステンレス鋼粒子と同程度であった。これらのことより、加熱処理や硝酸処理を施したステンレス鋼粒子はアルカリ pH 領域での負電荷が小さくなる結果、アルカリ洗浄において吸着タンパク質とステンレス鋼表面の反発力が低下し洗浄性が低下するものと考えられる。

5 まとめ

100°C から 500°C までの加熱処理を施したステンレス鋼粒子への BSA の吸着特性と、アルカリ溶液による洗浄特性を調べた。高温で加熱処理を施したステンレス鋼表面は Fe₂O₃ が豊富で水酸化度が低く、 σ_{app} の絶対値が低い表面へと変化し、その結果、BSA の吸着量は増加し、洗浄性は低下した。表面の化学組成変化を伴う場合、BSA の吸着量と正の σ_{app} 値の間に相関は見られず、不動態皮膜中の鉄の濃度と相関が見られた。洗浄性の低下は、Fe₂O₃ を主体とする不動態皮膜との吸着親和性の増加と表面の脱水酸化 (表面電荷の絶対値の減少) による OH⁻の吸着サイトの減少に起因すると考えられた。

参考文献

- 1) K.Takahashi, and S. Fukuzaki: *Biocontrol Sci.*, 8, 111 (2003)
- 2) S. Fukuzaki, H. Urano, M. Hiramatsu, and A. Takehara: *Biocontrol Sci.*, 6, 87(2001)
- 3) H. Urano and S. Fukuzaki: *J. Colloid Interface Sci.*, 252, 284(2002)
- 4) A. Rossi, and B. Elsener: *Mater. Sci. Forum.*, 185-188, 337 (1995)
- 5) A. Rossi, B. Elsener, G. Hähner, M. Textor, and N. D. Spencer: *Surf. Interface Anal.*, 29, 460(2000)
- 6) W. Norde, and C. E. Giacomelli: *J. Biotechnol.*, 79, 259(2000)
- 7) S. Fukuzaki, H. Urano, and M. Hiramatsu: *J. Surface*

- Finish. Soc. Jpn.*, 49, 915(1998)
- 8) S. Fukuzaki, H. Urano, and M. Hiramatsu and A. Takehara: *Biocontrol Sci.*, 6, 95(2001)
- 9) T. Sakiyama, K. Tanino, M. Urakawa, K. Imamura, T. Takahashi, T. Nagai, and K. Nakanishi: *J. Biosci. Bioeng.*, 88, 536(1999)
- 10) J. D. Filius, T. Hiemstra, and W. H. Van Riemsdijk: *J. Colloid Interface Sci.*, 195, 368-380(1997)
- 11) R. L. Parfitt, V. C. Farmer, and J. D. Russel, *J. Soils Sci.*, 28, 29(1977)
- 12) M. I. Tejedor-Tejedor, E. C. Yost, and M. A. Anderson: *Langmuir*, 8, 525 (1992)
- 13) L. K. Koopal: *Neth. Milk Dairy J.*, 39, 127 (1985)
- 14) C. A.-C. Karlsson, M. C. Wahlgren, and A. C. Trägårdh: *Int. Dairy J.*, 8, 925(1998)
- 15) C. A.-C. Karlsson, M. C. Wahlgren, C.-O. A. Olsson, and A. C. Trägårdh: *J. Colloid Interface Sci.*, 220, 471(1999)
- 16) K.Takahashi, and S. Fukuzaki: *J. Surface Finish. Soc. Jpn.*, 57, 290(2006).