

## 卓上電気透析脱塩装置 FRESALTOR® の開発

宮 木 義 行  
佐 藤 公 庸  
赤 沢 道 博  
馬 場 信 行

### Development of a Computer-Controlled Electrodialysis System FRESALTOR® for a Laboratory-Scale Desalting

Yoshiyuki MIYAKI  
Kiminobu SATOH  
Michihiro AKAZAWA  
Nobuyuki BABA

A new electrodialysis system FRESALTOR® has been developed for a laboratory-scale desalting. The system is equipped with electrodialysis cell consisting of perfluorinated ion-exchange membranes and a dimension-stable anode, a microcomputer, a tubing pump, an electric conductometer, and a leakage sensor. The cell is autoclavable and the desalting process is automatically controlled.

This system enables easy and speedy desalting from small amounts of samples. For example, 10 ml of a 1 N NaCl solution can be desalted down to about 10 ppm of NaCl within 20 minutes. The recovery of low-molecular-weight electrolyte such as saccharides and alcohols reaches 87 to 95% when they are completely desalted (over 99.9% level of desalting). Low-molecular-weight electrolytes such as nucleotides, antibiotics, amino acids, and oligopeptides hold recovery efficiency from 83 to 95% at 80% level of desalting, but the recovery is reduced significantly when they are completely desalted.

#### 1. はじめに

近年、生化学分野の研究開発が急速に活発になってきたが、ここでは、動植物組織あるいは培養液からの有用物質の抽出・精製が主な目的となっている。この場合、生体組織や培養液中には必ず生物が増殖あるいは生存するために必要な無機塩が含まれており、また、抽出や硫酸分画といった粗分画や、それに続く精製工程の中で無機塩が使用される。例えば、イオン交換クロマトグラフィや逆相系のクロマトグラフィでは塩を含む溶離液を使用する。このため、脱塩は生化学物質の分離精製プロセスにおいて一つのキーテクノロジーとなっており、特に

実験室で使いやすい脱塩機器の出現が望まれていた。

従来、生化学分野で用いられた脱塩方法としては、ゲル濾過法、拡散透析法、限外濾過法、電気透析法がある。これらのうち、ゲル濾過法は、穏和な脱塩法として酸素などの脱塩によく使用されるが、分離操作によりサンプルが希釈されることと必要成分が低分子量の場合脱塩が難しくなることが欠点である<sup>1)</sup>。また、従来の拡散透析法では塩濃度を下げるためには大量の透析外液を用いて長時間透析を行わねばならない上、数千以下の分子量の成分は膜漏れを生じる。限外濾過法では、必要成分の濃縮が可能であるが、膜の目詰まりが生じ易いことと低分子量成分の膜漏れが問題となる<sup>2)</sup>。

一方、電気透析は高速脱塩法として、食品関係の製造プラントで使用されているが、装置が複雑で大掛りであり実験室での使用には不向きであった<sup>2)</sup>。しかし、電気透析は、与える電流と電圧で運転が制御されるので、本来、自動化に適するはずである。我々は、電気透析の高速性と制御性に着目し、実験室用の自動脱塩装置の開発を行った。

## 2. 脱塩の原理

本脱塩装置の心臓部である電気透析セルは Fig. 1 に示すような構造を持っている。これに直流電流を流した時、アニオン交換膜はアニオンのみを透過させ、カチオン交換膜はカチオンのみを透過させるので、中央の試料液から電解質が除去される。一方、非電解質は電流によって輸送されず、試料液中にとどまる。このセルによる電解質移動速度  $J_s$  (eq/sec) は次式で表される<sup>3)</sup>。

$$J_s = \eta IF$$

ここで、 $I$  は電流、 $F$  は Faraday 常数、 $\eta$  は電流効率である。 $\eta$  は高選択透過性のイオン交換膜を用いた場合、通常、95%以上となり、電解質移動速度は電流に比例する。また、電極液に硫酸ナトリウム水溶液を用いた場合、陽極では、主に酸素、陰極では水素が発生する。

## 3. 装置設計

Table 1 に今回開発した脱塩装置 FRESALTOR の仕様を示した。標準の処理量は 6~50 ml と設定し、電気透析についてほとんど経験のない人にでも使えるよう自動化を行い、狭い実験室で使い易いようにコンパクトな卓上型とした。Fig. 2 は FRESALTOR の外観を示す写真である。また、安定で安全な運転のため、膜や電極の材質については十分に吟味し、液漏れ等による非常

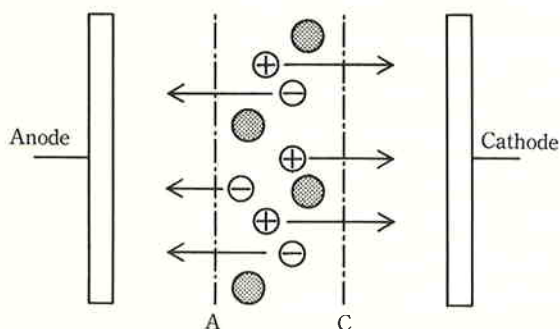


Fig. 1 The principle of desalting by electro-dialysis.

A, anion-exchange membrane; C, cation-exchange membrane; ⊕, cation; ⊖, anion; ⊙, non-ionic species

停止も考慮した。さらに、接液部は装置本体より取外し蒸気滅菌が出来るように材質等を選定した。

電気透析セルを含む送液ラインについて、流路図を Fig. 3 に、装置内の配置図を Fig. 4 に示した。電気透析セルは Fig. 1 に示したような3室型とし、アニオン

Table 1 Specification of electro-dialysis system FRESALTOR

Code	IE-Labo
Method	electrodialysis
Current	LOW (0.3A), MID (0.6 A), HIGH (0.9 A)
Amount of Sample	6~50 ml
Membrane	perfluorinated ion-exchange membranes
Electrodes	dimension-stable electrode (DSE)
Operation	push the start key, automatically stop
LED Indication	current, conductivity ratio, operating time
Desalting Limit	lower than 10 ppm for NaCl
Temperature Range	4~80°C
Autoclave	possible
Emergency Stop	by leakage of sample solution and unusual current and voltage
Dimensions	300 mm (W) × 245 mm (H) × 340 mm (D)
Weight	10.4 kg
Power Consumption	50 W



Fig. 2 The photograph of FRESALTOR.

交換膜とカチオン交換膜には耐温度性と耐薬品性に優れたフッ素系のものを採用した。これらイオン交換膜の仕様を Table 2 にまとめた<sup>4,5)</sup>。今回は、イオン選択性の高い DF-34 と NF-34 を脱塩用の標準品として主に評価し、これらよりイオン交換容量と含水率が高く、選択性におとる LFA-50 と LFC-50 を比較的分子量の大きな電解質の除去用として前者との比較検討を行った。このイオン交換膜部分は1枚のカセットに一体化し、膜交換を容易にした。一方、電気透析セルの陽極の材質は、ステンレスでは電流を流した時に溶解してしまうため、安定性に優れた金属酸化物被覆チタン [ペルメレック電極(株)製, DSE]<sup>6)</sup>とした。また、セルの材質は三フッ化ポリエチレン, ポリスルホン, ステンレスなど耐熱性と耐溶剤性に優れたものとした。

膜近傍での濃度分極を防ぐため、試料液と電極液は2連のチュービングポンプを用いて循環するようにした。ここで、陽極室と陰極室を直列に連結することは、電極液の pH を安定にするのに役立つ。また、流路はデッ

ドボリュームが少なくするよう (試料液側で約 2.5 ml) 設計した。

本装置には、脱塩中に試料液の塩濃度をチェックできるように、試料液の送液ラインに伝導度セルを設置した。このセルの電極には今回開発した特殊な金属酸化物被覆電極を用いており、これにより、濃度に対する電気伝導度の直線性と測定の安定性が大きく改善された。例とし

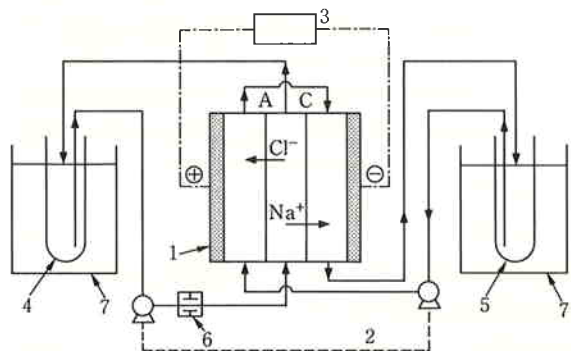


Fig. 3 The construction diagram of FRESALTOR.

- 1, electrodiolysis cell; 2, double-head tubing pump; 3, direct current power supply; 4, sample reservoir; 5, reservoir of electrode solution; 6, conductance sensor; 7, reservoir holder

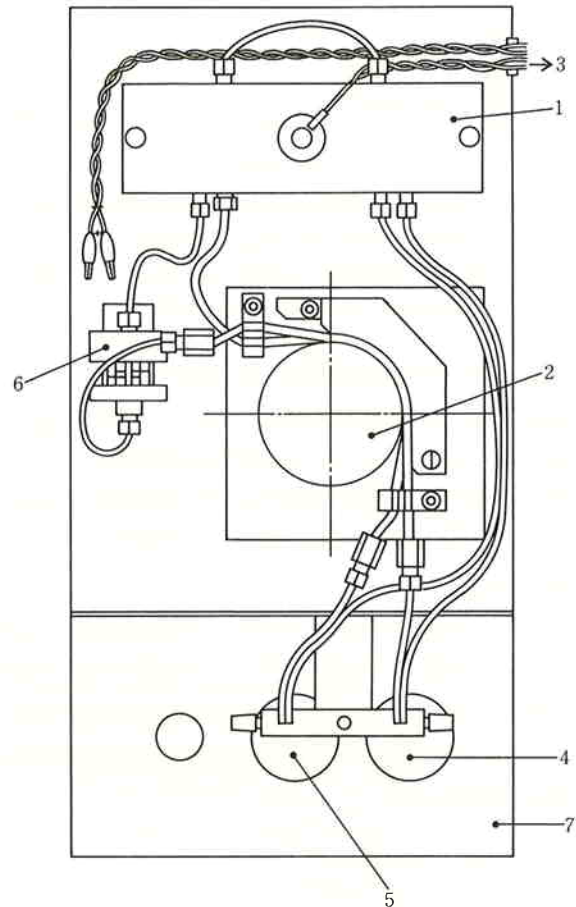


Fig. 4 The arrangement of the functional parts of FRESALTOR.

Numbers indicate the same parts as shown in Fig. 3.

Table 2 Characteristics of anion- and cation-exchange membranes used in the electrodiolysis cell of FRESALTOR.

Membrane Code	Anion-Exchange Membrane		Cation-Exchange Membrane	
	DF-34	LFA-50	NF-34	LFC-50
Thickness (mm)	0.36	0.2	0.45	0.2
Ion-Exchange Capacity (meq/g dry resin)	0.67/0.91	0.9	0.7/0.9	1.2
Resistance in 0.5 N NaCl at 25°C (ohm · cm <sup>2</sup> )	4.5	6	6.0	6
Caution Transport Number for 0.1 M/1.0 M KCl System	<0.03	0.16	>0.97	0.94
Water Content in 0.5 N NaCl at 25°C (% Dry Basis)	16	35	18	40

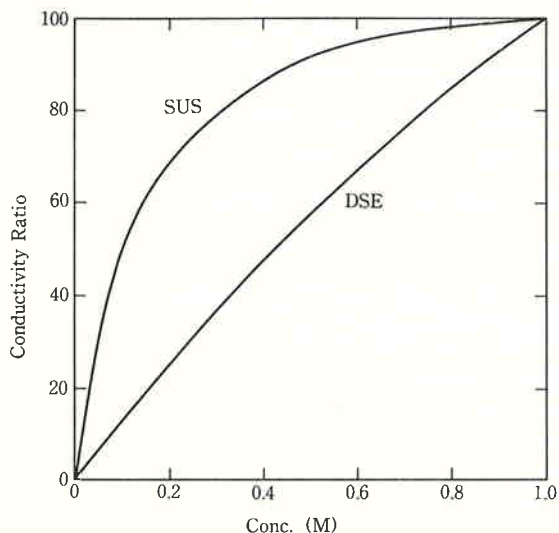


Fig. 5 The relationship between conductivity and concentration for NaCl solution.  
SUS, stainless steel electrodes; DSE, dimension stabilized electrodes

て Fig. 5 に、電気伝導度率と食塩濃度の関係を示した。これより金属酸化物被覆電極はステンレス電極に比べてかなりよい直線性を示すことが明らかである。

試料液容器と電極液容器のホルダーは水槽として用いることができ、運転中試料を冷却したり保温することが可能である。

さらに、液漏れ検出用のセンサーを電気透析セルとポンプの下に設置することにより、万一液漏れが生じた場合、ポンプとセルへの通電を自動的に停止するようにした。これにより、長時間運転の際の安全と試料液の損失の防止が保障される。

#### 4. 操作方法

直流電源とチュービングポンプは、電気透析セルに流れる電流値、試料液の電気伝導度、および運転時間に基づき、装置に内蔵したマイクロプロセッサによりコントロールされる。操作パネルは Fig. 6 のようになっており、SET キーにより脱塩の終了条件を上記3つのパラメータで設定し、DESALT キーを押せば、自動的に脱塩が開始され停止する。そして、この運転の間、DISPLAY キーにより電流、塩濃度（電気伝導度率）、および運転時間が確認可能である。CLEAN キーは脱塩の前後に送液ラインの洗浄を行うときに用いる。セルへ流す電流は CURRENT キーにより選択でき、LOW は 0.3 A、MID は 0.6 A、HIGH は 0.9 A となっている。ただし、電圧の上限は決まっているので、試料液の塩濃度が低くなると、抵抗が上昇し流れる電流はこれら

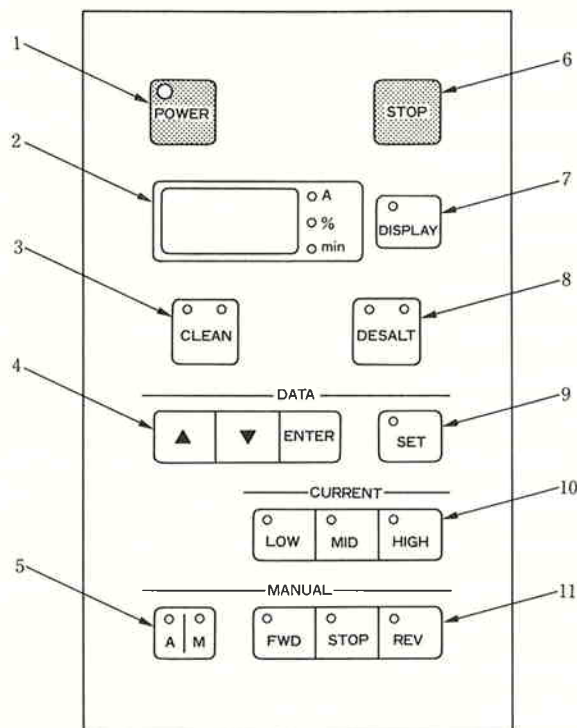


Fig. 6 The control board of FRESALTOR.

1, power switch; 2, LED display; 3, clean key; 4, end parameter input key; 5, auto/manual change key; 6, stop key; 7, display select key; 8, desalt key; 9, end parameter select key; 10, current select key; 11, pump operating key

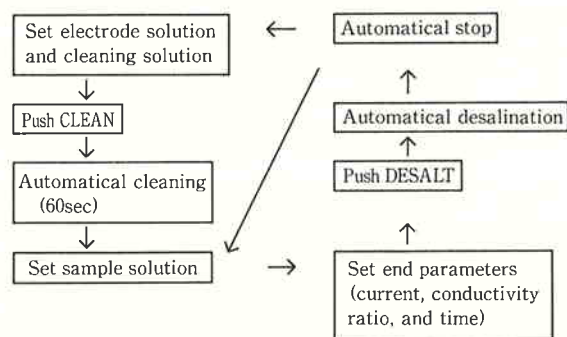


Fig. 7 The operation flow for desalting by FRESALTOR.

選択した値より低くなる。

実際の運転における操作の流れを Fig. 7 に示した。

脱塩は電流値、電気伝導度、時間のうちどれか1つが終了設定値に到達した時、終了する。この終了条件の設定方法は、脱塩に供する試料および目的に依存する。例えば、高濃度の塩分（1 M 以上）を含む非イオン性の目的物を完全に脱塩したい場合は、電気伝導度をゼロに設定し（電気伝導度では終了しない）、時間は十分長く

設定し (1分単位で、最高999分まで設定可能)、電流を 0.02 A に設定するとよい。一方、目的物がイオン性の有機物である場合、これと同じ条件で完全に脱塩しようとする目的物の回収率の低下を招くことがある。この時は、終了の電流値を高めを設定するか、電気伝導度を適切な値に設定する必要がある。また、完全に脱塩しないで塩濃度を1/2とか1/3にしたい場合は、電気伝導度により終了設定を行うのがよい。

Fig. 6 で MANUAL キーは、チュービングポンプを手動で動作させたいとき使用する。

使用する電極液は、通常、5%の硫酸ナトリウム水溶液とし、脱塩試料の量と塩濃度を考慮し、電極液の塩濃度があまり高くないように (1 M 以下程度) 使用量を決めるのがよい。以下の実験では、1 M の食塩水 10 ml に対し、25 ml の電極液を使用した。ただし、試料液がカルシウムイオンを含む場合は、硫酸ナトリウム水溶液では電極室に沈殿が生じることがあり、5%程度のリン酸ナトリウム水溶液を電極液に使用するのがよい。

### 5. 評価データと考察

#### (1) 耐久性試験

Fig. 8 は、1 M の食塩水 10 ml の脱塩と電気透析セル部分のオートクレーブを繰返し行った時の脱塩性能の安定性を示すデータである。ここで、脱塩の設定電流値は LOW (0.3 A) であり、脱塩率は99%とした。また、オートクレーブは、121°Cで20分間行った。図には、脱塩時間をオートクレーブの回数に対してプロットしてあ

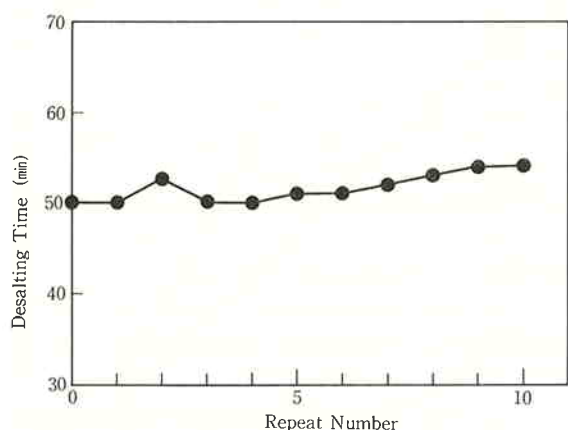


Fig. 8 The autoclave test for the electro dialysis cell of FRESALTOR. autoclave (121°C, 20 min), sample (1 M NaCl solution, 10 ml), electro dialysis (max. current, 0.3 A; desalting degree, 99%).

る。脱塩に要する時間はオートクレーブを繰返してもほとんど変化なく、膜や電極を含めた電気透析セルが安定であることを示している。因みに、炭化水素系のイオン交換膜では、1回のオートクレーブにより膜が破損してその後の使用は不可能であった。

また、1 M の食塩水 10 ml を食塩濃度が 1/100 まで脱塩することを繰返した時、脱塩に要した時間の変化を調べた結果を Fig. 9 に示した。脱塩を繰返してもかな

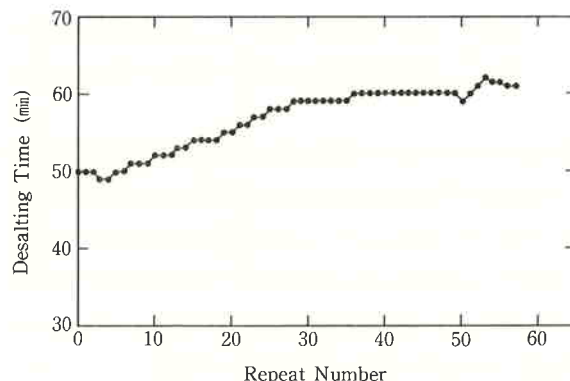


Fig. 9 The repeat test of electro dialysis by FRESALTOR. sample (1 M NaCl solution, 10 ml), electro dialysis (max. current, 0.3 A; desalting degree, 99%).

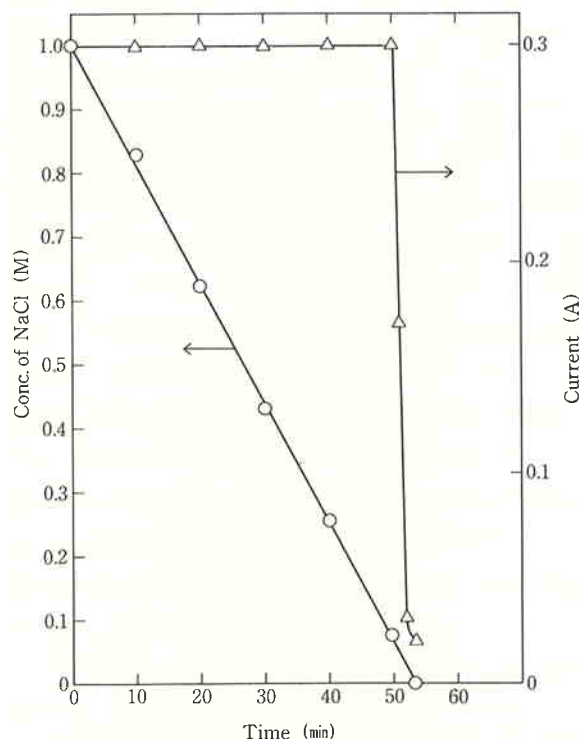


Fig. 10 The desalting test with 1 M NaCl solution. volume (10 ml), max. current (0.3 A).

り安定した性能を示すことが分る。

## 〔2〕 無機塩についての脱塩性能

CURRENT キーで電気透析セルに流す電流を LOW (0.3 A) に設定して、1 M の食塩水 10ml を脱塩した時の試料液中の食塩濃度と電流の時間変化を Fig. 10 に示した。この時、終了の電流値は 0.02 A とした。電流は脱塩を開始してから50分まで 0.3 A と一定であり、その後、急速に減少し 0.02 A となったところで、通電が停止した。一方、食塩濃度は、式 1 から予想されたとおり、電流が一定の間は時間に対してほぼ直線的に減少した。そして、脱塩が終了した時の濃度は 9 ppm であった。

電気透析セルに流す電流を変えて、1 M の食塩水 10 ml を脱塩した時の試料液中の食塩濃度と脱塩時間の関係を Fig. 11 に示した。いずれの場合も終了の電流値は 0.02 A と設定した。脱塩に要する時間は設定電流が高いほど少なく、両者はほぼ反比例の関係にあることが分った。

Fig. 12 に、1 M の食塩水 10ml, 0.5 M の硫酸アン

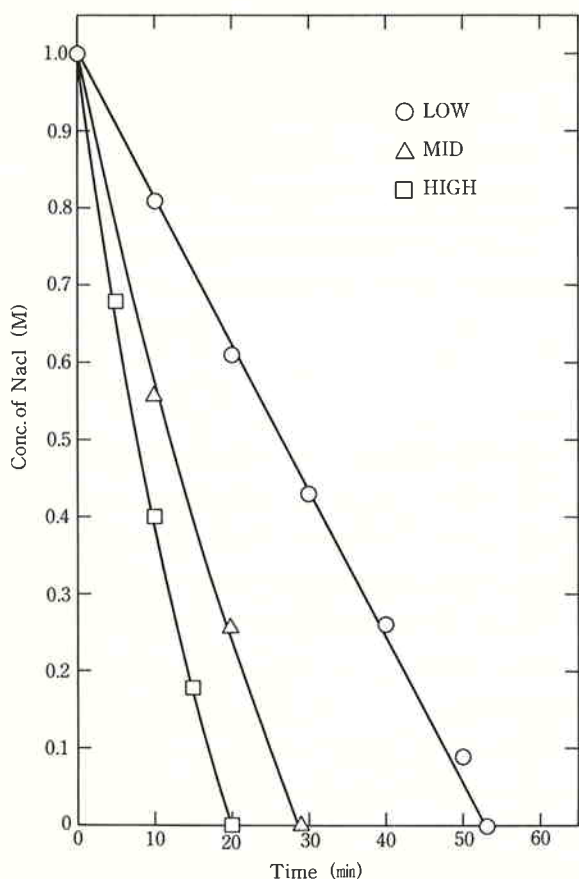


Fig. 11 The desalting test at varying currents.  
○, LOW (0.3 A); △, MID (0.6 A); □, HIGH (0.9 A).  
sample (1 M NaCl solution, 10ml)

モニウム 10 ml, 0.1 M リン酸緩衝液 (pH=6.8) 10 ml を別々に設定電流値 0.3A で脱塩した結果を示した。これらの塩では脱塩時間はほぼイオンのグラム当量数で決まることが分った。

## 〔3〕 代表的な有機物の脱塩

各種の有機物について、一種類の有機物と 1 M の食塩を含む水溶液 10 ml を脱塩した結果を Table 3 にまとめた。ここでは、すべて設定電流値を 0.3 A とし、食塩の80%を除去した時と99.9%以上を除去した時の有機物の回収率、脱塩時の pH の変化、および99.9%以上の脱塩に要する時間を示した。99.9%以上の脱塩においては、食塩濃度はほぼ 10 ppm 前後であった。

Table 3 において、メタノール、エタノール、エチレングリコール、ポリエチレングリコールのようなアルコール類およびグルコースやサッカロースのような糖類は非イオン性の物質であり、これらは、分子量が小さくても脱塩によりほとんど膜透過しない。また、脱塩に要する時間も食塩単独系とほとんど変わりなく効率よく脱塩が可能であることがわかる。さらに、詳しく観察すると、

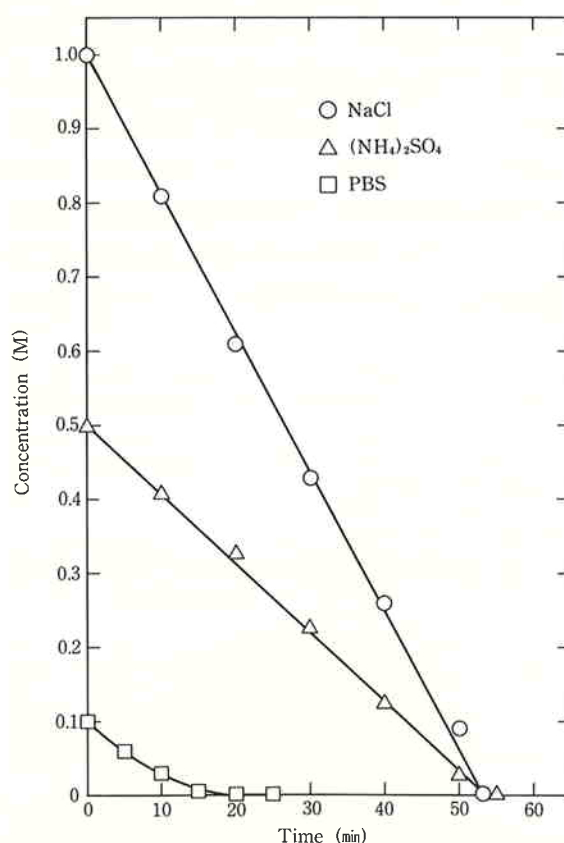


Fig. 12 The desalting test with three kinds of salt solution.  
○, 1 M NaCl; △, 0.5 M Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>; □, 0.1 M phosphate buffer solution (PBS).

Table 3 Desalting of typical organic substances by FRESALTOR

conditions: sample volume (10 ml), initial concentration of NaCl (1 M), current (0.3 A), temperature (25°C), anion-exchange membrane (DF-34), cation-exchange membrane (NF-34)

Substance	Molecular Weight	Conc. (wt-%)	Recovery (%)		Time (min/99.9% Desalting)
			80% Desalting	99.9% Desalting	
Methanol	32	1	90	88	53
Ethanol	46	1	91	88	53
Ethylene Glycol	62	1	91	91	53
Polyethylene Glycol	300	1	92	92	53
Glucose	180	1	91	90	53
Saccharose	342	1	95	95	53
Adenosine-5 -monophosphate	347	1	95	3	54
Penicillin G, Potassium	372	1	83	2	59
L-Phenylalanine	165	0.5	95	66	54
Glycylglycylglycine	189	1	90	61	54
Albumin, From Bovine	67,000	0.5	100	100	53
		0.05	93	93	53
		0.01	80	76	53

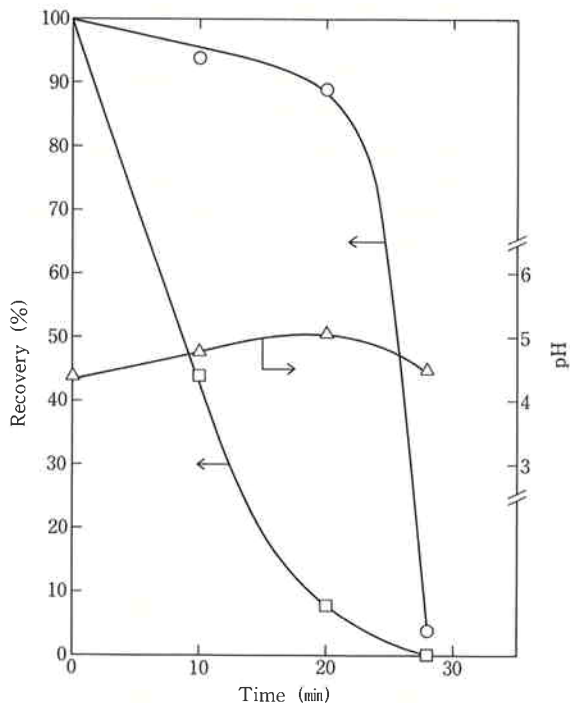


Fig. 13 The desalting test with a Penicillin G solution.

○, recovery of Penicillin G; □, recovery of NaCl; △, pH of sample solution. initial solute concentration (Penicillin G, 1 wt-%; NaCl, 1 M), volume (10 ml), max. current (0.3 A).

これら非イオン性物質は分子量が小さい方が膜漏れが僅かに大きくなっている。このような有機物の膜漏れは濃度拡散と電気浸透流によるものと考えられる。

一方、アデノシンーリン酸やペニシリンGカリウムの

ようなイオン性物質は、80%脱塩ではほとんど膜漏れしなかったが、脱塩率が100%近くなると膜漏れが急激に大きくなり回収が不可能であった。参考のため、ペニシリンGカリウムについて、脱塩による溶質の濃度変化とpH変化を Fig. 13 に示した。このようなアニオン性有機電解質の膜透過挙動の原因は、十分量の塩素イオンが試料液中に存在する間は、アニオン交換膜は有機アニオンより塩素イオンの方を優先的に透過させるが、塩素イオンが減り有機アニオンが優勢になると今度は有機アニオンが膜中に取込まれ膜を透過して行くためと考えられる。

両性電解質である L-フェニルアラニンやグリシルグリシルグリシンの場合も、80%脱塩ではほとんど膜漏れしなかったが、脱塩率が100%近くなると膜漏れが大きくなった。しかし、100%近い脱塩において、上記のアニオン性有機電解質ほど大きな回収率の低下は見られなかった。参考のため、L-フェニルアラニンについて、脱塩による溶質の濃度変化と pH 変化を Fig. 14 に示した。脱塩の間、試料液の pH は等電点から大きくずれることはなかった。アミノ酸やオリゴペプチドは等電点では見掛け上非電解質として扱い、電気透析により輸送されないと予想されたが、実際は、共存する無機塩がなくなるとイオン交換膜を透過してしまうことが分かった。このことは、両性電解質でも、共存イオンがない状態では、カチオンあるいはアニオンとして、カチオン交換膜あるいはアニオン交換膜に取込まれ膜透過し得ることを示している。

蛋白質の脱塩例として、 $\gamma$ -グロブリンを0.25重量%

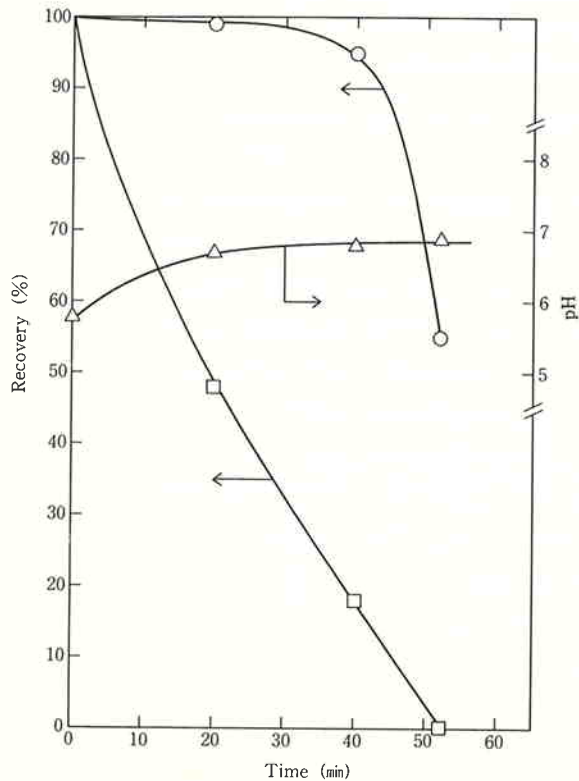


Fig. 14 The desalting test with a L-Phenylalanine solution.

○, recovery of L-Phenylalanine; □, recovery of NaCl; △, pH of sample solution.

solute concentration (L-Phenylalanine, 1 wt-%; NaCl, 1 M), volume (10 ml), max. current (0.3 A).

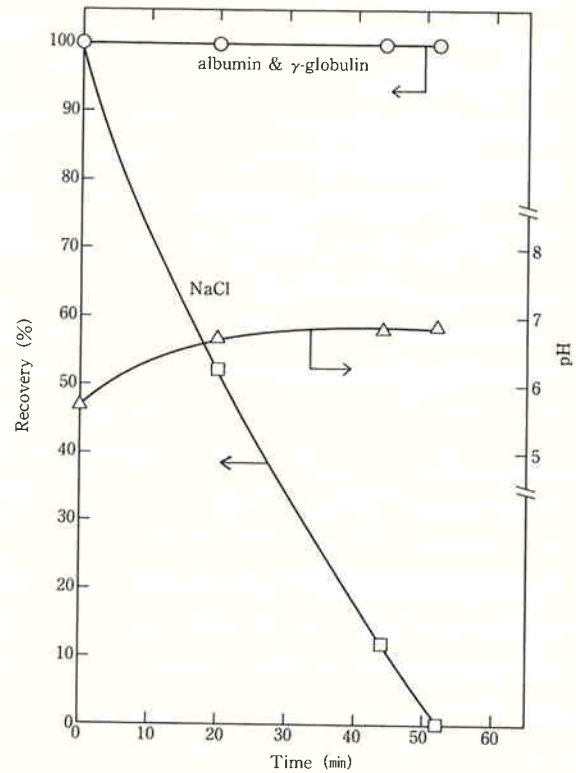


Fig. 15a The desalting test with a protein solution.

○, recovery of Albumin and  $\gamma$ -Globulin; □, recovery of NaCl; △, pH of sample solution. solute concentration (Albumin, 0.25 wt-%;  $\gamma$ -Globulin, 0.25 wt-%; NaCl, 1M), volume (10 ml), max. current (0.3 A).

アルブミンを0.25重量%, 食塩を1M含有する水溶液を設定電流値0.3Aで脱塩した結果をFig. 15aに示した。また, 脱塩前と後の蛋白質の液体クロマトグラムをFig. 15bに示した。これらの図とTable 3より, 試料中に蛋白質が混入していても, 塩の透過には影響せず, ほぼ100%の回収率で蛋白質の脱塩が可能であることが分る。また, Fig. 15bは, 脱塩により蛋白質の変質は生じないことを示唆している。しかし, 低濃度の蛋白質の場合, 回収率が少し低下しており, これは蛋白質のイオン交換膜等への吸着によるものと考えられる。また, 酸素のように生理活性を有する蛋白質の場合は, 単なる吸着のみでなく活性収率が問題となる。現在のところ, 電気透析が蛋白活性に及ぼす影響は明らかでなく, 今後の検討課題として残されている。

#### 〔4〕 大きなイオンの分離

2種類のイオン交換膜対, DF-34/NF-34系とLFA-50/LFC-50系, について, 比較的分子量の大きなイオンの分離挙動を比較検討した結果をFig. 16に示

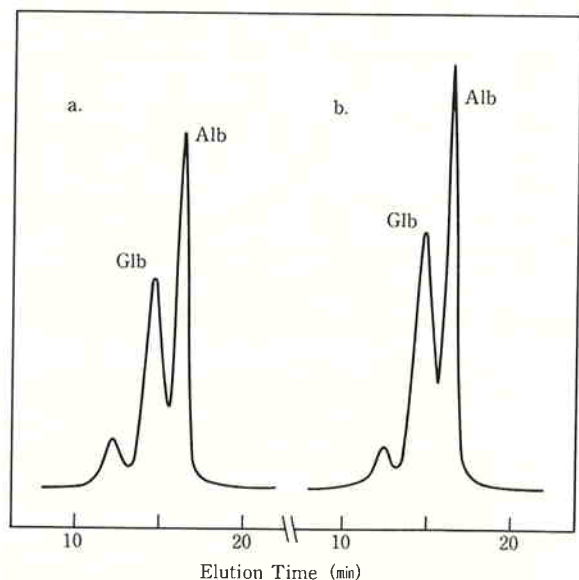


Fig. 15b The desalting test with a protein solution: Analysis by liquid chromatography. column (G3000SW), flow rate (1ml/min), eluent (0.5 M phosphate buffer solution)



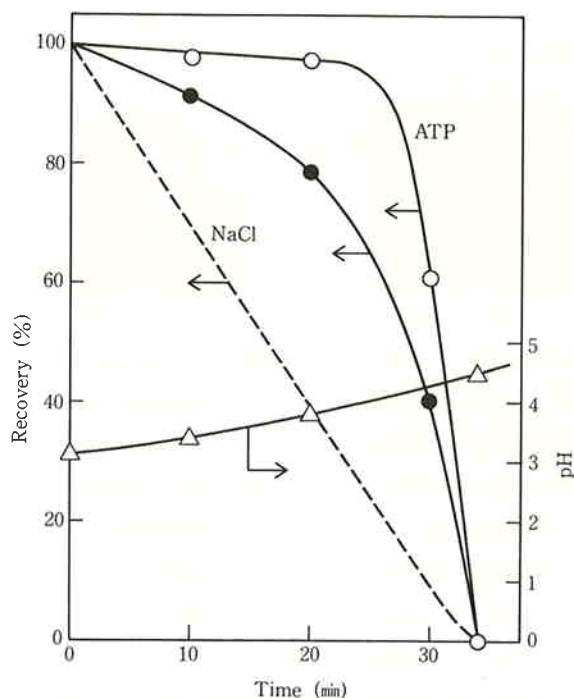


Fig. 16 The desalting test with an Adenosin-5'-triphosphate (ATP) solution by use of two sets of ion-exchange membranes. ○, and ●, recovery of ATP; dashed line, recovery of NaCl; △, pH of sample solutions. membranes (○, DF-34 and NF-34; ●, LFA-50 and LFC-50), solute concentration (ATP, 0.5 wt-%; NaCl, 0.5 M), volume (10 ml), current (LOW).

した。ここでは、0.5重量%のアデノシン三リン酸と0.5 Mの食塩を含む水溶液 10 ml を試料として用い、0.3 Aの電流で脱塩を行った。この図において、含水率が大きく膜が幾分ルースである LFA-50/LFC-50 系では、食塩濃度が高い領域で ATP 濃度が減少しており、ATP を膜透過させ易いことが分る。このことは、目的により膜を使い分けることが効果的な分離のために必要であることを示唆している。しかし、食塩と ATP を最後まで除去するのに必要な時間はいずれの膜でも変わらない。

## 6. おわりに

以上述べたように、心臓部である電気透析セルにフッ素系イオン交換膜と金属酸化物被覆電極を採用し、コントロール部にマイクロプロセッサを導入することにより性能が安定でコンパクトで使い易い卓上脱塩装置 FRESALTOR を開発することができた。また、本装置には、電気伝導度による運転制御や液漏れセンサーによる非常停止等斬新な機能も盛り込んだ。

FRESALTOR の基本的な脱塩性能試験の結果、1 Mの食塩を含む試料液を食塩濃度を 10 ppm 程度まで落とすことができた。この時、低分子量のアルコール類や糖類のような非イオン性の有機物は90%以上あるいは90%近い回収率であった。一方、ヌクレオチド、抗生物質、アミノ酸等のイオン性の有機物の場合は、脱塩率80%程度までは高回収率で脱塩が可能であるが、100%近くまで脱塩を行うと回収率の急な低下を招くので、適切な脱塩終了条件の設定が必要であることが分った。

今回開発の脱塩装置は電気透析の標準装置であり、ここで述べた評価項目も一般的なものに留めた。従って、実際の応用においてはある程度予備試験が必要となる。今後、目的に応じより掘下げたソフトウェアおよびそれに附随するハードウェアの開発が望まれよう。

## 文 献

- 1) Pharmacia Data Sheet (1984)
- 2) 「清水, 西村編; 最新の膜処理技術とその応用」, (フジテクノシステム) (1986)
- 3) 浦本 弘; 「清水, 西村編; 最新の膜処理技術とその応用」, 219 (フジテクノシステム) (1986)
- 4) 木原, 宮木; 「化学工業」, 38, 170 (1987)
- 5) 川寄, 清田, 庫内, 毛利; 「ソーダと塩素」 37, 487 (1986)
- 6) 中川誠二; 「ソーダと塩素」, 38, 191 (1987)

(著者については次頁)