〈論 文〉

タンパク質溶液の泡沫生成に及ぼす pH ならびに共存物質の影響

鈴木 祥 広* 丸 山 俊 朗*

Effects of pH and Coexistent Substances on the Foam Formation of a Protein Solution

Yoshihiro SUZUKI* and Toshiroh MARUYAMA*

* Department of Civil and Environmental Engineering, Miyazaki University, Gakuen Kibanadainishi 1-1, Miyazaki 889-2192 Japan

Abstract

To establish a foam separation technique using proteins as a foaming reagent, it is important to know the foaming characteristics of various protein solutions and to demonstrate the effective application of these proteins. In this study, the effects of pH and coexistent substances on the foam formation of various proteins were examined.

The results are as follows.

- (1) The foaming capacity of globular proteins such as casein, hemoglobin, soy protein, and albumin was enhanced in both strong acid and alkaline solutions. In contrast, gelatin, which is a fibrous protein, had only a slight dependency on pH.
- (2) The foam formation of proteins varied with the differences of cations in the solution. The enhanced potential were $\text{Na}^+ = \text{K}^+ > \text{Mg}^{2+} > \text{Sr}^{2+} \gg \text{Ca}^{2+}$ in order. Anions had no effect on foaming capacity.
- (3) The foaming capacity of casein was elevated with the addition of LAS (sodium linear-dosecylbenzenesulfonate). In contrast, the capacity of casein was lowered by the presence of SDS (sodium dodecyl suophate).
- (4) Globular proteins showed denaturation, dissociation and association with pH and coexistent substances, and these change affected foam formation.

It is possible to generate the optimum amount of proteinaceous foam by taking advantage of each protein's unique characteristics.

Key words : protein, foam formation, foaming capacity, pH change, coexistent substances

1. はじめに

界面活性物質を含む液体に気泡を供給すると、水面上に泡沫が生成される。浮遊選鉱法^{1,2)}や泡沫分離法³⁻⁵⁾はこの性質を利用した代表的な処理法である。これらは、鉍物粒子懸濁液^{1,2)}や各種の廃水など⁴⁻¹²⁾に合成界面活性剤を添加し、気泡を供給することによって、水面に生成される泡沫を分離・回収して液体から目的とする物質を回収あるいは除去する方法である。丸山ら¹³⁾は、海産魚類の飼育水に気泡を激しく供給すると、タンパク質である魚類の体表面粘質物が泡沫を生成し、その泡沫に懸濁物が吸着され、飼育水が浄化されることを明らかにした。さらに、この原理を発展させて、界面活性を有するタンパク質(カゼイン)を薬剤として積極的に利用した泡沫分離法による汚濁水処理に関する研究を進めてきた。下水¹⁴⁻¹⁶⁾、粘土粒子¹⁷⁾や植物プランクトン^{18,19)}の懸濁液について実験的に諸条件を変化させて泡沫の生成し得る適

切な処理条件を求め、極めて高い除去率が得られることを報告した。しかし、水処理の薬剤としてのタンパク質の性質や機能については不明な点が多い。

タンパク質の多くは、強い界面活性を示し、界面活性剤と同様に気液界面に吸着し、安定な泡沫を生成することが古くから知られている^{20,21)}。従来の泡沫分離法に用いられてきた合成の界面活性剤は、直鎖あるいは枝鎖からなる疎水性基と親水性基が明確に色分けされて配置する構造になっている。これに対してタンパク質は、約20種類のアミノ酸からなるポリペプチド鎖によって構成され、分子量は5,000から数万におよび、その側鎖に疎水性残基と親水性残基(解離して正または負に荷電する残基および極性残基を含む)が不規則的に配置する構造は極めて複雑である。このタンパク質の多様性・複雑さをうまく利用することで、泡沫分離処理に極めて有効に働くと考えられる。しかし、タンパク質を含む水溶液の泡沫生成に関する研究は極めて少ない。各種の汚濁排水の処

* 宮崎大学工学部土木環境工学科 〒889-2192 宮崎市学園木花台西1-1

理技術の一つとして、タンパク質を用いた泡沫分離法を確立するためには、タンパク質の泡沫生成に関する特性を把握し、その機能を効果的に発揮させることが重要である。

そこで本研究では、タンパク質の泡沫生成に及ぼす要因として、タンパク質の種類、pH、および共存物質(塩類と陰イオン界面活性剤)について検討を行い、タンパク質の泡沫生成を利用した水処理プロセスの開発に関する基礎的知見を得ることを目的とした。

2. 実験方法

2.1 装置

泡沫発生装置図を Fig. 1 に示す。気液接触塔本体は、塔高100cm、内径2.6cm のアクリルパイプ製から成り、その底部には微細気泡を供給するためのガラスボールフィルター(木下理化製、G 4)を取り付けた。通気ガスには空気を用い、送気ポンプ(レイシー製)および流量計(小島製作所製)によって所定の流量に調整して塔内に通気した。

2.2 泡沫の測定²²⁾

Fig. 1 に示した装置に一定流量 ($0.3\text{ l}\cdot\text{min}^{-1}$) の微細気泡を供給し、試水100ml (水温 20°C) を気液接触塔の上部から壁面に沿って注入した。泡沫生成の様子を観察し、注入終了直後から60秒内における泡沫の最高到達点と溶液/泡沫界面からの高さ(以降、“泡沫の高さ”と定義する)を定規で測定した。実験は、3 回行い、平均値を泡沫の高さとした。

2.3 試薬の調製

タンパク質；カゼイン(乳製、化学用和光純薬製)、大豆タンパク(化学用、和光純薬製)、アルブミン(卵製、和光純薬製)、ならびにヘモグロビン(牛血製、片山化学製)の標準溶液 ($1,000$ または $10,000\text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$) は、それぞれの試薬を 0.01 N の水酸化ナトリウム水溶液に溶解して作成した。ゼラチン(和光純薬製)については、 $50\sim 60^{\circ}\text{C}$ 程度の温蒸留水で溶解させて $1,000\text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$ の標準溶液

を作成した。なお、この5種類のタンパク質はいずれも界面活性を有し、安価で市販されている物質である。

陰イオン界面活性剤；直鎖ドデシルベンゼンスルホン酸ナトリウム(標準品、和光純薬製、以下 LAS とする)、ラウリル硫酸ナトリウム(化学用、ナカライ製、以下 SDS とする)、ならびにオレイン酸ナトリウム(化学用、和光純薬製)は、それぞれ蒸留水に溶解し、標準溶液 ($1,000$, $5,000\text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$, または $10,000\text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$) を作成した。

塩類；塩化物として、塩化ナトリウム (NaCl)、塩化カリウム (KCl)、塩化カルシウム (CaCl_2)、塩化マグネシウム (MgCl_2)、および塩化ストロンチウム (SrCl_2) を用いて $50\text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$ (または $25\text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$) の標準溶液を作成した。また、ナトリウム塩として、硝酸ナトリウム (NaNO_3)、硫酸ナトリウム (Na_2SO_4)、炭酸水素ナトリウム (NaHCO_3)、およびリン酸水素二ナトリウム (Na_2HPO_4) を用いて $50\text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$ (または $25\text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$) の標準溶液を作成した。

2.4 試料の調整

2.4.1 pH の変化

蒸留水にタンパク質を所定濃度になるよう添加し、塩酸 (0.1 N , 1 N) または水酸化ナトリウム水溶液 (0.1 N , 1 N) で pH を変動させ、それぞれの pH における泡沫の高さを測定した。

2.4.2 塩濃度の影響

(1) NaCl と NaHCO_3

所定濃度の NaCl 水溶液 ($0\sim 10,000\text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$) を作成し、これを溶媒としてカゼイン ($5.0\text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$) の泡沫の高さを測定した。同様にして、アルブミン、ヘモグロビン、大豆タンパク、およびゼラチンについても、それぞれの濃度を 20 , 5 , 20 , および $20\text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$ の一定とし、それぞれのタンパク質の NaCl 濃度における泡沫の高さを測定した。また、 NaCl と同様に、 NaHCO_3 ($0\sim 1,000\text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$) を用いて、カゼインとゼラチン ($5\text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$ または $20\text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$) の泡沫生成に及ぼす影響を調べた。

(2) 陽イオン (Na^+ , K^+ , Mg^{2+} , Ca^{2+} , Sr^{2+}) および陰イオン (Cl^- , SO_4^{2-} , CO_3^{2-} , PO_4^{3-} , NO_3^-) の及ぼす影響

塩化物として NaCl , KCl , MgCl_2 , CaCl_2 , および SrCl_2 , ナトリウム塩として NaCl , NaCO_3 , Na_2SO_4 , NaNO_3 , および NaHCO_3 を用いて、それぞれ所定濃度の水溶液 ($0\sim 1,000\text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$) を作成し、この中でカゼイン ($5.0\text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$) の泡沫生成能を測定した。

(3) 海水の添加率が及ぼす影響

蒸留水と人工海水²³⁾を所定の割合 ($0\sim 100\%$) で混合し、カゼインを $5.0\text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$ になるよう添加し、海水添加率の異なる溶液のそれぞれの泡沫の高さを測定した。同様にして、界面活性剤の LAS ($2.0\text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$)、SDS ($5.0\text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$)、およびオレイン酸ナトリウム ($30\text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$) についても、海水添加による泡沫生成能への影響を調べた。

2.4.3 陰イオン界面活性剤の影響

LAS ならびに SDS の共存下におけるカゼインの泡沫生成の影響を調べた。蒸留水にカゼインを $10\text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$ または $20\text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$ となるように加え、LAS 濃度 ($0.2\sim 5.0\text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$) ならびに SDS 濃度 ($1.0\sim 20.0\text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$) を変化させて泡沫の高さを測定した。

Fig. 1 Schematic diagram of experimental set up for foam generation.

(1) gas flow meter, (2) glass ball filter, (3) bubble column, (4) drain.

2.5 紫外線吸収スペクトルの測定

pH (2~12) および NaCl ($0 \sim 10,000 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$) のカゼイン水溶液 ($20 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$) の紫外線吸収スペクトル (240~300nm) について、分光光度計 (島津 UV2200 型) を用いて測定した。

3. 結果と考察

3.1 pH の影響

タンパク質は、両性高分子電解質であることから、溶液の pH によって両性の解離度が変化するので、pH の変化が泡沫生成能に及ぼす影響は大きいと考えられた。泡沫分離法において、泡沫生成能の変化は、処理性を左右する。そこで、pH の変化によるタンパク質の泡沫生成能に及ぼす影響を検討した。本実験で調べた 5 種類のタンパク質のなかで、カゼイン、アルブミン、ヘモグロビン、大豆タンパクの 4 種類は球状タンパク質に属し、ゼラチンのみが繊維タンパク質に属する。

カゼイン濃度の異なる溶液における pH の変化と泡沫の高さの関係を Fig. 2 に示した。1~10 $\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$ のいずれの濃度区においても、強酸性および強アルカリ性になると、泡沫の高さは増加する傾向を示した。この要因として、カゼインの変性、ならびにカゼイン分子の解離・会合が考えられる。同じ pH でみると、泡沫の高さはカゼインの濃度に依存した。カゼインは、等電点である pH4.6 付近を除く広い pH 範囲において、泡沫を生成す

ることがわかった。しかし、pH4.6 付近では、カゼイン分子が凝析して白濁を生じ、10 $\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$ においても全く泡沫は生成しなかった。

カゼインと同様にして、アルブミン、ヘモグロビン、大豆タンパク、およびゼラチンについても泡沫生成に及ぼす pH の影響について調べた (Fig. 3)。

アルブミンは、カゼインと同様に、強酸性 (pH2 以下) と強アルカリ性 (pH12 以上) では泡沫は著しく高くなる

Fig. 2 Effect of pH on foaming capacity of casein.

○, 1 $\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$; □, 3 $\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$; △, 5 $\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$; ◇, 10 $\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$

Fig. 3 Effect of pH on foaming capacity of various proteins.

(a), albumin ($20 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$); (b), hemoglobin ($10 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$); (c), soy protein ($20 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$); (d), gelatin ($20 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$).

傾向を示した。また、アルブミンは等電点付近(pH5)において極大値を示し、等電点において泡沫生成能が高くなることが示された(Fig. 3-a)。アルブミンの水面上における単分子膜の面積は、等電点付近において最もその面積が極大となり、pH3 付近と pH7 付近で極端に小さくなることが報告されており²¹⁾、Fig. 3-a の泡沫の高さの変化と類似した挙動を示した。

ヘモグロビンは、pH6~8 で泡沫の高さが幾分低くなったが極端な変化は見られず、酸性とアルカリ性ではカゼインおよびアルブミン同様に高い泡沫を生成した(Fig. 3-b)。

大豆タンパクの泡沫の高さは、強アルカリ性では、泡沫生成能が著しく高くなる性質があった(Fig. 3-c)。しかし、酸性ではほとんど泡沫を生成せず、pH4.3~5.5 では白濁を生じた。大豆タンパクの大部分(約80%)はグロブリンであるとされており²⁴⁾、pH の変化と大豆タンパクの泡沫生成能の関係は、グロブリンの性質(等電点 pH5, アルカリ性溶液に可溶)を強く反映したものと推定された。

一方、ゼラチンについてみると、強酸性(pH2 以下)および強アルカリ性(pH12以上)では泡沫は極端に低くなった(Fig. 3-d)。また、ゼラチンは、pH2~11の範囲でみると、その他の物質と比較して pH の変化によって泡沫の高さに及ぼす影響は小さかった。

汚濁水の処理を目的とした泡沫分離法には、pH の広い範囲で、高い泡沫生成能を有するタンパク質を用いることが望しい。この点から評価すると、ヘモグロビンとカゼインが選択される。カゼインは、等電点付近の pH4~5 では、泡沫生成能が失活するので、この点を留意して処理条件を検討する必要がある。

3.2 塩濃度の影響

実際の排水・環境水には多様なイオンが含まれる可能性が高く、また、海水あるいは海水が混入した汚濁排水には、極めて高濃度の塩類が含まれている。従来の合成界面活性剤を利用した泡沫分離法では、処理性を著しく阻害する要因の一つにイオン強度¹⁰⁻¹²⁾、すなわち塩濃度が挙げられており、数種類の界面活性剤を用いて、塩を含む排水の処理法が検討されている。そこで、タンパク質の泡沫生成能に及ぼす塩類の影響を検討した。

3.2.1 塩化ナトリウムと炭酸水素ナトリウムの影響

タンパク質の濃度を所定の濃度で一定とした場合の NaCl 濃度の変化と泡沫の高さの関係を Fig. 4 に示した。それぞれの溶液の pH は、NaCl の濃度区によってわずかに変化し、高濃度区の pH が低く、カゼイン(5 mg・l⁻¹)では pH6.72~6.07, アルブミン(20mg・l⁻¹)では pH9.77~9.55, ヘモグロビン(5 mg・l⁻¹)では pH7.45~6.89, 大豆タンパク(20mg・l⁻¹)では 10.18~10.07, ならびにゼラチン(20mg・l⁻¹)では 5.67~5.40 の範囲で変化した。なお、ここでは pH の変化は考慮せずに考察を行うこととした。カゼインの泡沫の高さは、NaCl の濃度の増加に伴って指数関数的に高くなり、10,000mg・l⁻¹では60cm 以上に達した。カゼインの泡沫生成能は、NaCl が少量存在するだけで劇的に増加することが明らかであった。また、大豆タンパクの泡沫の高さは、カゼインと類似した変化を示し、NaCl 濃度の増加に伴って著しく高くなった。アルブミンとヘモグロ

Fig. 4 Effect of NaCl concentration on foaming capacity of various proteins.

○, casein (5mg・l⁻¹); □, albumin (20mg・l⁻¹); ◇, hemoglobin (5mg・l⁻¹); ▽, soy protein (20mg・l⁻¹); ●, gelatin (20mg・l⁻¹).

Fig. 5 Effect of NaHCO₃ concentration on foaming capacity of casein and gelatin.

○, casein (5mg・l⁻¹); ●, gelatin (20mg・l⁻¹).

ビンも NaCl 濃度に依存して、泡沫が高くなる傾向を示した。一方、ゼラチンでは、泡沫の高さは100mg・l⁻¹において NaCl 無添加の2倍程度になったものの、それ以降は NaCl 濃度の増加に関係なく一定の傾向を示した。

NaCl と同様にして、カゼインとゼラチンの泡沫生成に及ぼす NaHCO₃の影響について検討した。カゼインは、NaHCO₃の場合においても NaCl と類似した変化を示し、泡沫の高さは濃度の増加とともに指数関数的に増加した(Fig. 5)。これに対して、ゼラチンは NaHCO₃濃度が1,000mg・l⁻¹では、泡沫は無添加の場合よりも2~3倍程度高くなったが、泡沫の高さが NaHCO₃濃度に依存する傾向は小さかった。

NaCl と NaHCO₃の結果から、カゼインなどの球状タンパク質の泡沫生成能は塩濃度に強く依存し、塩が存在することによってその能力が著しく増加することが明らかとなった。これに対して繊維タンパク質のゼラチンは、カゼインと比較すると、塩が泡沫の生成に及ぼす影響は極めて小さいことがわかった。

3.2.2 陽イオンの及ぼす影響

カゼインと共存する陽イオン (Na^+ , K^+ , Mg^{2+} , Ca^{2+} , Sr^{2+}) の違いによる泡沫生成への影響を Fig. 6 に示した。5種類のいずれの塩化物においても、0～1 mmol・ l^{-1} (電気伝導度 $100\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$) の範囲においては類似した挙動を示し、無添加の蒸留水の場合と比較すると、塩が少量存在することによって泡沫の生成は著しく促進され、泡沫の高さは無添加の場合の約3～4倍 (約30cm) になった。 Na^+ と K^+ は極めて類似した傾向を示し、1 mmol・ l^{-1} より高い濃度区においても、 Na^+ と K^+ の濃度の増加に伴って、カゼインの泡沫の高さは増加した。これに対して、 Mg^{2+} と Sr^{2+} はいずれも0.3～0.4 mmol・ l^{-1} ($80\sim 100\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$) より高い濃度区においては濃度の増加に関わらず、カゼインの泡沫の高さは30cmでほぼ一定の傾向を示した。一方、 Ca^{2+} についてみると、3 mmol・ l^{-1} から急激にカゼインの泡沫生成能が低下する傾向を示し、高い Ca^{2+} 濃度では、濃度の増加に伴って生成される泡沫は低くなった。

カゼインには、 Ca^{2+} と結合して沈殿を生ずる α 型カゼインが含まれていることから²⁵⁾、泡沫生成能が急激に低下したのは、カゼインが沈殿し、泡沫を生成する溶解性のカゼインが減少したためと考えられる。このことから溶液中に存在する陽イオンの種類の違いは、カゼインの泡沫生成能に影響を及ぼすことが明らかとなった。カゼ

Fig. 6 Effect of cations on foaming capacity of casein ($5\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$).

Fig. 7 Effect of anions on foaming capacity of casein ($5\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$).

インの泡沫生成能を増大させる陽イオンの順は、 $\text{Na}^+ \approx \text{K}^+ > \text{Mg}^{2+} > \text{Sr}^{2+} \gg \text{Ca}^{2+}$ であった。

3.2.3 陰イオンの及ぼす影響

Cl^- , SO_4^{2-} , CO_3^{2-} , および PO_4^{3-} の異なる陰イオンが溶液に存在する場合においても、カゼインの泡沫生成は極めて類似した挙動を示し、濃度の増加に伴って泡沫の高さは増加した (Fig. 7)。 Cl^- , SO_4^{2-} , CO_3^{2-} , および PO_4^{3-} の違いがカゼインの泡沫生成能に及ぼす影響は極めて少ないことがわかった。 NO_3^- はその他の陰イオンと比較すると、カゼインの泡沫生成能を高める効果は低い傾向を示した。

3.2.4 人工海水の添加による影響

人工海水を所定の割合 (0～100%) で混合したときの、海水添加率とカゼインの泡沫の高さの関係を Fig. 8(a) に示した。海水を0.1%添加しただけで泡沫の高さは無添加の場合の約4倍となり、1.0% (電気伝導度 $684\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$) では30cmに達した。10% (電気伝導度 $6,080\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$) を越えると再び著しく増加し、30%では泡沫の高さは60cmを越えた。50%と100%では泡沫が低下したが、これは泡沫が極めて良好に生成され、カゼインは60秒内に溶液から泡沫に移動し、泡沫の生成が終了したためであった。

カゼインと同様にして、Fig. 8(b)には、海水添加率と

Fig. 8 Effect of seawater concentration on foaming capacity of casein (a) and various surfactants (b). (a): $\circ$, casein ($5\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$); (b): $\square$, LAS ($2\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$); $\triangle$, SDS ($5\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$); $\bullet$, sodium oleate ($30\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$).

LAS, SDS, およびオレイン酸ナトリウムの泡沫の高さの関係を示した。強電解質の LAS と SDS は、添加率の増加に伴って泡沫の高さは上昇したが、カゼインと比較するとその程度は低い。一方、オレイン酸ナトリウムは、海水を0.1%添加しただけで泡沫生成能が極端に低下し、ほとんど泡沫を生成しなくなった。

3.2.5 塩共存下における pH の変化の影響

塩共存下におけるタンパク質の pH の変化による泡沫の生成に及ぼす影響を検討するため、NaCl と NaHCO_3 を加えたカゼイン水溶液（カゼイン濃度、 $5.0\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ ；NaCl あるいは NaHCO_3 の塩濃度、 $100\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ ）について、塩酸または水酸化ナトリウム水溶液で pH を変化させ、それぞれの pH におけるカゼインの泡沫の高さを測定した。pH6～10の範囲において、NaCl および NaHCO_3 を添加したカゼイン溶液は、塩無添加の溶液と比較して、泡沫の高さは、4～5 倍高くなった (Fig. 9)。これは、カゼインが塩と共存することによって泡沫生成能が高まったためと考えられる。しかし、カゼインの等電点である pH4.5 付近では、塩無添加と塩添加のいずれの溶液についても白濁が生じ、泡沫は全く生成されず、泡沫生成能が消失した。

3.2.6 塩共存下におけるタンパク質の有利性

SDS およびオレイン酸ナトリウムは、最も広く泡沫分離法に用いられてきた界面活性剤である。カゼインと SDS の泡沫生成能を比較すると、同濃度では、塩類無添加および添加のいずれの場合においても、カゼインの方が高い (Fig. 8)。また、オレイン酸ナトリウムは、海水などに含まれる塩類が共存する溶液中では、界面活性が失活し、泡沫を全く生成しなくなる性質を有する。オレイン酸ナトリウムに代表されるセッケンはすべて、塩類共存下において、泡沫生成は著しく阻害されると考えられる。

これに対して、カゼインをはじめとするタンパク質は、塩が共存することによって泡沫生成能が著しく高まり、塩濃度の高い汚濁排水においても泡沫分離に適した性質を示すことが明らかであった。特に、カゼインは pH4～5 では、塩共存下においても泡沫生成能が著しく低下

Fig. 9 Effect of pH on foaming capacity of casein in salt solutions. Casein concentration was Constant at $5\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$

○, distilled water ; □, NaCl ($100\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$) ;
△, NaHCO_3 ($100\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$).

するが、これ以外の広い pH 範囲において、高い泡沫生成能を有するタンパク質であった。水処理プロセスにおいては、塩類添加によって効果的に泡沫を生成させることが可能である。

実際に、カゼインを用いた泡沫分離法による下水性汚濁海水の処理では、海水の添加率が増加するとともに除去率も増加し^{14,15)}、また、イオン強度が約0.7と極めて高い塩濃度の赤潮海水についても98%以上の高い除去率でプランクトンを泡沫に回収できることが明らかとなっている¹⁹⁾。

3.3 陰イオン界面活性剤の影響

LAS は、わが国で最も使用量の多い界面活性剤であり、排水中に最も多く含まれる可能性の高い陰イオン界面活性剤である²⁶⁾。また、SDS も排水中に含まれる可能性の高い陰イオン界面活性剤であり、タンパク質と極めて強く結合する性質がある²⁶⁾。SDS は、タンパク質の可溶化剤（または解裂剤）として最もよく用いられ、タンパク質の変性に関する研究例も多い物質である²⁷⁻²⁹⁾。そこで、カゼインの泡沫生成能に及ぼす LAS および SDS の影響について検討した。

3.3.1 LAS

LAS の濃度の増加に伴って、生成される泡沫は高くなる傾向を示し、カゼインの濃度が $10\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ の場合、LAS

Fig. 10 Effect of anionic surfactants on foaming capacity of casein.

(a), LAS ; (b), SDS.

○, Casein $10\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$; □, casein $20\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$.

が $1.0\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ では 36cm となった (Fig. 10-a)。蒸留水ベースにおいて、カゼイン $10\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ の生成する泡沫の高さは 11cm 程度、LASは $1.0\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ では 4cm であり²²⁾、これらの高さを合わせると 15cm 程度である。しかし、カゼインとLASが共存すると泡沫生成能は約2.4倍に高まったことになる。同様の傾向は、カゼインの濃度が $20\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ の場合にもみられ、LASが共存することによってその溶液の泡沫生成能は著しく高められた。LASは、それ自身が界面活性を有し、泡沫を生成するが、これ以外の働きとして少量($0.2\sim 1.0\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$)のLASがカゼインと共存することによってカゼインの泡沫生成を促進させることが明らかであった。

したがって、LASを含んだ汚濁排水を処理する場合には、泡沫生成に必要なカゼインの添加量を大幅に減量化できると推定される。

3.3.2 SDS

カゼイン濃度 $10\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ において、SDSの濃度が $0.5\sim 2.0\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ の間では、増加に伴って泡沫の高さが急激に低下し、 $5.0\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ 以上になると再び増加する傾向を示した (Fig. 10-b)。カゼインが $20\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ の場合においても、SDSの濃度が $0.5\sim 3.0\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ の間では、増加に伴って泡沫の高さが急激に低下した。SDSの濃度が $5.0\sim 10\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ では泡沫の高さは再び僅かずつ増加し、 $20\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ においては 45cm となった。このとき生成された泡沫はSDSによるものと考えられた。このことから、SDSは、カゼインの泡沫生成を著しく阻害することが明らかとなった。

したがって、SDSを含んだ汚濁排水を処理する場合には、泡沫生成を目的としたカゼインの利用は、適切でないと考えられる。

3.4 種々のpHとNaCl濃度におけるカゼインの紫外線吸収スペクトルの変化

タンパク質溶液は、 280nm 付近の紫外線を強く吸収し、紫外線域の波長において種類によって固有の吸収スペクトルを示す。また、同一のタンパク質の溶液においても、pHの変化や種々の状態によって吸収の変動が認められることがある³⁰⁾。本研究において、pHの変化、および塩類の共存によって、カゼインの泡沫生成能は、大きく変化した。この要因として、カゼインの変性と分子の解離・会合が考えられた。そこで、条件の違いによる紫外線吸収スペクトルの変化から、カゼインの変性に関する検討を行った。

3.4.1 pHの影響

種々のpHにおけるカゼイン溶液($20\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$)の吸収スペクトルを Fig. 11-a に示した。pH $2.03\sim 8.02$ の範囲では 280nm 付近に極大値を示し、極めて類似した吸収スペクトルを示した。そして、pHが 8.02 から 9.55 に上昇するに伴って、 $240\sim 265\text{nm}$ の範囲の吸収スペクトルの吸光度が増加する傾向を示したが、 $270\sim 300\text{nm}$ の吸収スペクトルは一致していた。一方、強アルカリ性のpH 12.01 のスペクトルは、極大値は 290nm 、極小値は 270nm 付近に現れ、pH $2.0\sim 9.55$ のものと大きく異なった。このような変化傾向から、酸性から弱アルカリ性では、カゼインの分子は大きな変化を示さないことが示唆された。分子数が一定でその構造に変化がなければ、解離・会合の有無に関わらず、溶液の吸収スペクトルに変化は

Fig. 11 Effects of pH (a) and NaCl concentration (b) on the UV absorbance spectrum of casein solution. Casein concentration was constant at $20\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$.

生じないと考えられる³⁰⁾。中性付近の僅かな pH 変化による泡沫生成能の変化は、主にカゼイン分子の構造の変化を伴わず、分子の解離・会合のみによって生じたとみなすことができる。一方、強アルカリ性の場合には、吸収スペクトルに大きな変化が認められたことから、カゼイン分子の構造が崩壊して変性し、泡沫生成能が高められたと考えられる。

3.4.2 NaClの影響

NaCl 濃度の異なるカゼイン溶液($20\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$)の吸収スペクトルを Fig. 11-b に示した。なお、このときの NaCl 無添加、30, 100, および $10,000\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ のカゼイン溶液の pH は、それぞれ 9.12 , 9.10 , 8.90 , および 8.36 であった。

NaCl 無添加、30, および $100\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ のスペクトルはいずれも、極大値が 280nm で極小値が 250nm 付近であり、極めて類似した吸収スペクトルを示した。これは、 $0\sim 100\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ の NaCl 濃度では、カゼインの分子構造がほとんど変化していないことを意味している。したがって、 $10\sim 100\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ 程度の NaCl 濃度におけるカゼインの泡沫の増加は、主に、会合していた分子が変性することなしに解離したためと考えられる。一方、NaCl の濃度が $10,000\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ の場合には、 $240\sim 260\text{nm}$ の吸光度が増加し、 $0\sim 100\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ のスペクトルと明らかに異なる形を示した。高濃度の塩類溶液中では、タンパク質分子の

立体構造が崩れ、変性する³¹⁾とされる。このことから、 $10,000\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ と極めて高濃度の NaCl 溶液中では、カゼインの分子が変性し、これによって泡沫生成能が著しく増加(無添加のときの約10倍)したと考えられる。

4. ま と め

タンパク質の泡沫生成に及ぼす要因として、タンパク質の種類、pH、および共存物質(塩と陰イオン界面活性剤)について検討を行い、以下の知見を得た。

1) 球状タンパク質であるカゼイン、ヘモグロビン、大豆タンパク、およびアルブミンは、強酸性と強アルカリ性において泡沫生成能が著しく高まった。一方、繊維タンパク質のゼラチンは、pH 変化による影響をほとんど受けなかった。

2) カゼインの泡沫生成能を増大させる陽イオンの順は、 $\text{Na}^+ \approx \text{K}^+ > \text{Mg}^{2+} > \text{Sr}^{2+} \gg \text{Ca}^{2+}$ となった。また、陰イオンの違いがカゼインの泡沫生成に及ぼす影響は小さいことがわかった。

3) LAS は、カゼインと共存することによってカゼインの泡沫生成能を高めた。一方、SDS はカゼインの界面活性を失活させ、カゼインの泡沫生成能を著しく低下させた。

4) 球状タンパク質は、pH 変化および塩類によって変性と解離・会合を生じ、これらの変化が泡沫生成能を大きく左右した。

以上の基礎的知見は、タンパク質を利用した泡沫分離処理プロセスの開発において、その適応性、あるいは操作条件を検討していく上で、有用であると思われる。

(原稿受付 1999年8月6日)

(原稿受理 1999年12月27日)

参 考 文 献

- 1) 富田堅二 (1974) 非金属の選鉱法, 259pp., 技報堂, 東京.
- 2) 下飯坂潤三 (1979) 浮選「界面活性剤」(北原文雄, 玉井康勝, 早野茂夫, 原一郎), pp.403-413, 講談社, 東京.
- 3) 佐々木恒孝 (1967) 起泡分離「実験化学講座(続) 2 分離と精製」(日本化学会), pp.565-603, 丸善, 東京.
- 4) 吉田高年, 竹内忠雄 (1970) 泡沫分離(泡分離), 表面, 8, 65-73.
- 5) 堀江政治 (1979) 排水処理「界面活性剤」(北原文雄, 玉井康勝, 早野茂夫, 原一郎), pp.456-474, 講談社, 東京.
- 6) 下飯坂潤三, 松岡功 (1972) イオン浮選, 沈殿浮選, 吸着粒子浮選を利用した産業廃水の処理法について, 水処理技術, 13, 21-33.
- 7) 向井滋 (1973) 浮選による廃水処理, 表面, 11, 129-144.
- 8) 下飯坂潤三 (1977) 各種浮選法による排水中の重金属イオンの除去, 表面, 15, 542-552.
- 9) 加藤義重, 香月収 (1983) 塗装工業団地排水の処理に関する研究, 水質汚濁研究, 6, 31-38.
- 10) Horng, J. and Huang, S. (1993) Removal of organic dye (Direct Blue) from synthetic wastewater by adsorptive bubble separation techniques, *Environ. Sci. Technol.*, 27, 1169-1175.
- 11) Huang, S.D., Ho, H., Li, Y. and Lin, C. (1995) Adsorbing colloid flotation of heavy metal ions from aqueous solutions at large ionic strength, *Environ. Sci. Technol.*, 29, 1802-1807.
- 12) Choi, S.U. and Choi, Y.H. (1996) Removal of direct red from aqueous solution by foam separation techniques of ion and adsorbing colloid flotation, *Sep. Sci. Technol.*, 31, 2105-2116.
- 13) 丸山俊朗, 奥積昌世, 佐伯昭和, 嶋村茂 (1991) 活魚輸送・畜養, 養殖における泡沫分離法の飼育海水浄化能, 日本水産学会誌, 57, 219-225.
- 14) 丸山俊朗, 佐藤順幸 (1994) カゼイン添加泡沫分離法の海水性汚濁懸濁液における濁質除去能に関する研究, 土木学会第49回年次学術講演会概要集 II-B, 1048-1049.
- 15) 後藤崇, 丸山俊朗, 鈴木祥広, 土手裕 (1995) 泡沫分離法の下水の処理能に関する研究, 土木学会第50回年次学術講演会概要集 II-B, 1048-1049.
- 16) 後藤崇, 丸山俊朗, 鈴木祥広, 土手裕 (1996) 泡沫分離法の下水の预处理能に関する研究, 土木学会第51回年次学術講演会概要集 II-B, 228-229.
- 17) 丸山俊朗, 河添智, 鈴木祥広 (1997) 泡沫分離法によるカオリンの除去に関する研究, 第48回全国水道研究発表会講演集, 78-79.
- 18) 河添智, 丸山俊朗, 鈴木祥広 (1997) 泡沫分離法による淡水植物プランクトンの除去に関する研究, 土木学会第52回年次学術講演会概要集 VII, 520-521.
- 19) 丸山俊朗, 鈴木祥広, 河添智, 土手裕, 増田純雄 (1997) 凝集剤とタンパク質を併用した空気分散型凝集-泡沫分離法による海産赤潮プランクトンの直接回収, 水環境学会誌, 21, 310-317.
- 20) 佐々木恒孝 (1956) 泡沫「実験化学講座 7・界面化学」(日本化学会), pp.181-215, 丸善, 東京.
- 21) 中垣正幸, 福田清成 (1993) コロイド化学の基礎(日本化学会), 318pp., 大日本図書, 東京.
- 22) 鈴木祥広, 丸山俊朗 (2000) タンパク質溶液の泡沫生成能(泡立ち)を評価する一試験法, 水環境学会誌, 23, 122-125.
- 23) APHA (1985) Standard methods for the examination of water and wastewater 16th edition, pp.8-11, APHA, Washington D. C.
- 24) 山本淳 (1984) アルブミン, 大豆タンパク質「天然高分子」(高分子学会高分子実験学編集委員会), pp.33-36, 共立出版, 東京.
- 25) 曾根敏磨 (1984) カゼイン「天然高分子」(分子学会高分子実験学編集委員会) pp.90-93, 共立出版, 東京.
- 26) 日本水環境学会 (1994) 水環境と洗剤, 149pp., ぎょうせい, 東京.
- 27) 中沢淳, 中沢晶子, 早石修 (1973) タンパク質の相互作用「タンパク質化学」(安藤悦郎, 今堀和友, 伊勢村寿三, 早石修), pp. 639-687, 共立出版, 東京.
- 28) 中尾真 (1979) 界面活性剤と生体膜「界面活性剤」(北原文雄, 玉井康勝, 早野茂夫, 原一郎), pp.475-496, 講談社, 東京.
- 29) 土屋友房, 島本整 (1988) 膜タンパク質可溶化剤の進歩, 油化学, 37, 386-393.
- 30) 菅原潔, 副島正美 (1990) 紫外線吸収スペクトル法「タンパク質の定量法(第3版)」, pp.131-144, 学会出版センター, 東京.
- 31) 浜口浩三 (1967) 高次構造と環境「タンパク質の立体構造」, pp. 121-153, 共立出版, 東京.