

タンパク質を用いた泡沫分離法による病原性細菌の除去

宮崎大学工学部 (学) ○花ヶ崎宣昌, (正) 鈴木祥広, (正) 丸山俊朗
農学部 (非) 吉田照豊

1. はじめに

近年、陸上類養殖システムや水族館では、飼育水を循環して使用する循環式システムが普及してきている。循環している飼育水には、天然海水と比較して細菌が高密度に増殖する可能性が高く、養魚介類や飼育動物の疾病に重要な影響を及ぼすとされる。また、最近では衛生管理の観点から、水産物を取り扱う漁港においても使用する海水の細菌除去・殺菌が必要となってきている¹⁾。既存の塩素やオゾンによる殺菌法は、殺菌効果が高いものの、有害な酸化性物質が残留するため、飼育水や漁港の使用海水への適用は困難が伴うと推察される。生物の飼育水や港湾を含む沿岸海水を処理対象とした場合には、無注薬で大量処理の可能な処理水に残留物や変化を生じない細菌除去法が望ましい。

魚類の体表面粘質物（以降、粘質物とする）は、細菌の進入を阻止する物理的かつ生化学的な防御機能を有しており、多種多様な細菌や微生物の混在する水中で魚類が健全に生育していくために極めて重要な役割を果たしている。したがって粘質物は、病原性細菌に対する親和性の高いことが推察される。また、粘質物は親水性と疎水性の側鎖を兼ね備えている界面活性を有する複雑な巨大分子の糖タンパク質であり、微細懸濁物質に対する吸着性が極めて高く、しかも気泡を供給すると水面上に安定泡沫を形成して容易に分離・回収することが可能である^{1), 2)}。市販の界面活性タンパク質も粘質物と類似した機能を持ち合わせていることも明らかとなっている。

そこで本研究では、一般的な腸球菌について、粘質物およびタンパク質を利用した泡沫分離法による除去特性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

(1) 原水

液体培地に *E. faecalis* を接種し、25℃で24時間培養したものを6,000rpmで30分間遠心分離し、上澄み液を捨て、人工海水に再懸濁させる。これを同条件でもう1度遠心分離した後、上澄み液を捨て、人工海水に再懸濁させ、これを原液とした。これを濁度30度になるように人工海水で希釈したものを原水とした。

(2) 試薬

粘質物およびタンパク質（ゼラチンを除く）の原液（10,000mg/L）は、0.01Nの水酸化ナトリウム水溶液に溶解して作成した。また、合成界面活性剤についても調べた。本実験で検討した粘質物、タンパク質および界面活性剤は表-1に示した。

(3) 泡沫分離処理（凝集プロセスなし）

原水に粘質物（あるいはタンパク質、界面活性剤）を所定濃度（10～50mg/L）となるように加え、さらに1分間急速攪拌した。この懸濁液200mLを分取し、泡沫分離処理を行った。送気量は0.3L-空気/分、送気時間は3分間とした。原水と処理水の濁度を測定し、濁度除去率から本法の除去能を評価した。

(4) 凝集・泡沫分離処理

原水にと塩化第二鉄（1～10mg-Fe/L）を加えてジャーテスターで3分間急速攪拌した後、粘質物（あるいはタンパク質、界面活性剤）を所定濃度（10～50mg/L）となるように加え、さらに1分間急速攪拌した。この懸濁液200mLを分取し、泡沫分離処理を行った。送気量は0.3L-空気/分、送気時間は3分間とした。

3. 結果と考察

3.1 泡沫分離法（凝集プロセスなし）による細菌除去

粘質物、タンパク質、および界面活性剤を用いた泡沫分離処理における細菌の除去率を図-1に示した。なお、各添加濃度は、いずれの物質の場合にも泡沫が発生されるように設定した。泡沫が発生され、分離回収されたのにも関わらず、いずれの粘質物、

表-1 タンパク質・界面活性剤の種類と略称

タンパク質・界面活性剤	略語
ウナギ体表面粘質物	Mucus1
ヒラメ体表面粘質物	Mucus2
カゼイン	Case.
アルブミン卵製	Alb.
ウシ・ヘモグロビン	Hemo.
ゼラチン	Gela.
大豆製タンパク	Soy
硫酸プロタミン	S.P.
直鎖アルキルベンゼンスルホン酸塩	LAS
ラウリル硫酸ナトリウム	SLS
塩化ベンザルコニウム	BC
CHAPS	CHAPS
ポリオキシエチレンラウリルエーテル	PLE

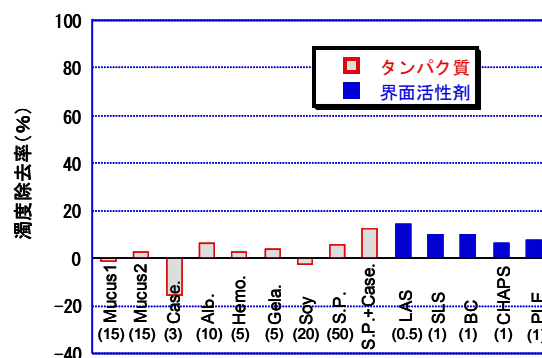


図-1 タンパク質または界面活性剤による濁度除去率（凝集剤無添加）

タンパク質、および界面活性剤を用いた場合にも細菌の除去率は極めて低かった。粘質物とタンパク質は、腸球菌に対して全く捕集剤の機能、すなわち細胞表面に吸着して界面を疎水化する機能を示さないことがわかった。カオリン粘土粒子を用いた場合には、粘質物と各種タンパク質においても極めて良好に泡沫に濃縮分離されたこと²⁾から、カオリン粘土粒子と腸球菌に対する粘質物と各種タンパク質の吸着特性は著しく異なると考えられる。

いずれの粘質物とタンパク質においても凝集プロセスなしの泡沫分離処理のみでは、腸球菌を除去することができないことがわかった。

3.1 凝集・泡沫分離法による細菌除去

腸球菌を凝集処理してから各種の粘質物、タンパク質、および界面活性剤を用いて泡沫分離処理した場合における細菌の除去率を図-2に示した。ウナギ粘質物、カゼインおよび大豆タンパクを用いた場合において、95%以上の極めて高い細菌除去率が得られた。除去率と添加濃度から判断するとカゼインが最も優れた腸球菌凝集フロックを分離除去する機能が高い。一方、合成界面活性剤を用いた場合には、全く処理されないことが明らかである。凝集・泡沫分離法は、粘土粒子や有機懸濁物等の濁質全般を高効率に除去できる処理法であるため、本法を適用することによって飼育水や海水の細菌以外の濁質も同時に除去できると考えられる。

3.2 凝集・泡沫分離法における最適注薬条件の設定

図-3には、原水濁度50度（細胞密度約 10^8 CFL/ml）の超高密度の腸球菌懸濁海水を用いた場合における、凝集剤とカゼインの注入率を変化させたときの細菌除去率を検討した。その結果、凝集剤10mg-Fe/L、カゼイン5mg/L以上の条件において99%以上の高い除去率が得られた。凝集剤とカゼインの注入率を適切に設定すれば、高密度の腸球菌懸濁海水からも極めて効果的に腸球菌を除去できることがわかった。ただし、実際の飼育水や沿岸水には細胞密度約 10^8 CFL/mlで存在する可能性は極めて低い。そこで、海水で希釈して細胞密度が約1/10の原水を作成し、同様にして、凝集剤とカゼインの注入率を変化させたときの細菌除去率を調べた（図-4）。なお、この希釈原水の細胞密度でも実際の漁港海水で検出される生菌数密度³⁾（約 $10 \sim 10^5$ CFL/ml）よりも2~6オーダー高い。凝集剤およびカゼインの必要な注入率は大幅に削減され、それぞれ1mg-Fe/Lと1mg/Lの条件において97%以上の高い除去率が得られた。実際の飼育水あるいは沿岸水を処理する場合には、極めて少ない凝集剤とカゼインの注入率で効率的に細菌が除去できると考えられる。

4. まとめ

(1) 粘質物とタンパク質は、腸球菌に対して、泡沫分離プロセスにおいて不可欠な捕集剤の機能を全く示さないことがわかった。

(2) 凝集剤とタンパク質を利用した凝集・泡沫分離法によって腸球菌は海水から効率的に分離・除去できる。

(3) 原水（細胞密度約 10^7 CFL/ml、濁度5度）について、凝集剤1mg-Fe/Lとカゼイン1mg/Lの注薬条件において97%以上の細菌除去率が得られる。

参考文献

- 1) 鈴木祥広, 丸山俊朗 (2000) 魚類の体表面粘質物を利用した泡沫分離法による懸濁物除去に関する基礎的研究, 水環境学会誌, 23, 181-186.
- 2) Y. Suzuki, T. Maruyama (2002) Removal of suspended solid by coagulation and foam separation using surface-active protein, Water Research, 36, 2195-2204.
- 3) 笹井久会, 杉山絵美, 吉水守 (2004) 衛生管理型標準漁港の細菌学的調査, 日本水産学会誌, 70(1), 60-65.

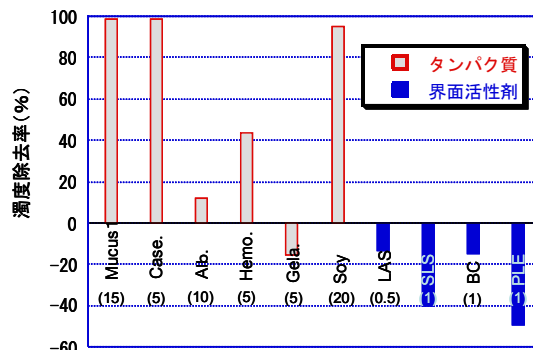


図-2 タンパク質または界面活性剤による濁度除去率（凝集剤添加）

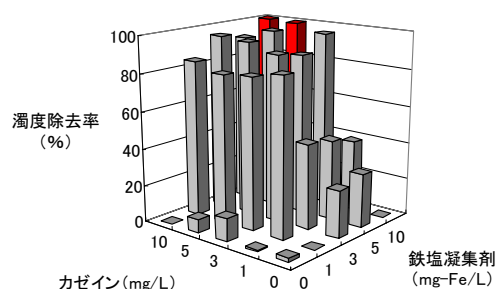


図-3 凝集剤、カゼインの添加濃度を変化させた場合の濁度除去率（原水濁度50度）

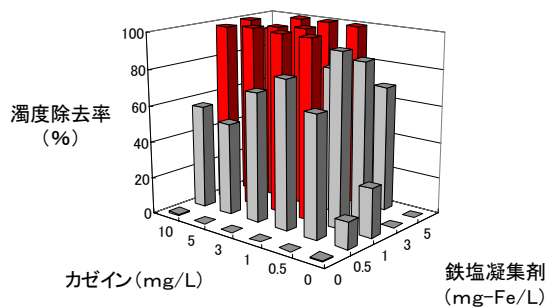


図-4 凝集剤、カゼインの添加濃度を変化させた場合の濁度除去率（原水濁度5度）