

(73) 熱帯植物 *Moringa oleifera* の種に含まれる凝集活性成分の浄水処理への応用のための精製と評価

奥田 哲士^{1*}・西嶋 渉¹・岡田 光正²

¹広島大学 環境安全センター (〒739-8513 広島県東広島市鏡山1-5-3)

²広島大学 理事・副学長 (〒739-8527 広島県東広島市鏡山1-4-1)

* E-mail: aqua@hiroshima-u.ac.jp

*Moringa oleifera*という熱帯植物の種には、水中の濁質を処理可能な凝集活性成分が含まれており、水や塩水を用いて抽出されているが、水抽出成分は低濁度水で効果が低いこと、塩抽出成分では精製後に活性がアルカリ域に限られることが問題である。しかし塩抽出成分についていえば、抽出時には中性付近でも活性があることから、精製方法を改良することによって中性付近で活性を持つ成分の精製が可能ではないかと考えられる。そこで本研究では塩水抽出された凝集活性成分の内、中性付近でも凝集活性を示す精製物を得ることを目的とした。その精製物に対する基本的な凝集特性の評価の他、実水道原水・フミン質を用いた評価も併せて行った。その結果、塩水抽出液を透析処理し、凝集活性成分を沈殿させ、脱脂後に0.3Mの塩化ナトリウム水溶液に再溶解させることで、常温、中性付近で濁質に対して高い凝集活性を示す成分を抽出できた。この成分を使った凝集では、DOCの増加は見られず、むしろフミン質、特にフミン酸のような比較的高分子量の溶存有機物質に対しても一定の処理効果を示した。また貯水池水と河川水に対して試験したところ、濁度とE254をそれぞれ95%以上、40%程度低減させた。

Key Words : coagulation, drinking water treatment, *Moringa oleifera*

1. 緒言

凝集沈殿処理は主に水中の懸濁物質を除去するために行われる操作で、浄水処理および廃水処理に広く用いられている。通常、凝集を促すために凝集剤と呼ばれる薬品を添加するが、アルミニウム系の凝集剤である硫酸アルミニウムやPAC (ポリ塩化アルミニウム) が特に浄水処理において広く用いられている。また、近年ではアルミニウムに代わる鉄系の凝集剤や、高分子凝集剤と呼ばれる有機系の凝集剤が研究・開発されている。しかしながら凝集汚泥に高濃度でアルミニウムや合成高分子が存在する事は、近年要求の高い汚泥の有効利用を阻害する原因となり得る。一方、開発途上国に目を向けると、化学薬品の使用が水処理コストを高めることから、それらの国々に成育する植物や大量に排出される植物由来の廃棄物から水処理剤を作り出す試みが行われている。

そのような天然凝集剤の一つに、*Moringa oleifera*という熱帯植物の種から蒸留水によって抽出された凝集剤がある¹⁾。この*M. oleifera*の種から抽出される凝集活性成分は、種が食用に利用されていることから人体に無害と考

えられる他、*M. oleifera*は熱帯地方に広範に存在する植物であり、かつ木の成長が早いために大量に生産できるという長所がある。*M. oleifera*から蒸留水で抽出 (*M. oleifera* coagulant - distilled water: 以下MOC-DWと表記) した凝集活性成分に関する数多くの研究により²⁾³⁾⁴⁾、高濁水の処理に対しては十分適応可能であることが証明され⁵⁾⁶⁾、最近ではパイロットプラントによる実用化試験なども行われている。しかしながらMOC-DWは、低濁水の処理には効果が低いという問題点を持っている他、処理水中に抽出時の共雑物質が混入して処理後のDOC (溶存有機物質) 濃度を著しく上昇させるといった問題が指摘されている⁷⁾⁸⁾⁹⁾。処理水中にDOCが残留すると、水の腐敗の原因となる他、塩素系の消毒剤で処理した場合、トリハロメタンなどの消毒副生成物を生成することが問題となる。

一方、塩水溶液 (塩化ナトリウム水溶液) を用いて抽出された凝集活性成分 (*M. oleifera* coagulant - sodium chloride: 以下MOC-SCと表記) は、低濁水に対してもMOC-DWより高い濁質除去能力を持っており¹⁰⁾、さらにMOC-SCより単離、精製された凝集活性成分では凝集処理後にDOCの増加が起らないことがわかっている¹¹⁾。

またMOC-SCの凝集活性成分はMOC-DWの凝集活性成分とは異なる成分であると推察されている。しかしながらMOC-SCより単離された凝集活性成分はアルカリ領域でしか凝集が起らず、この事は実際の浄水処理への適用を考えた場合に大きな問題となる。しかし精製前のMOC-SCが中性領域で、凝集活性を示すことから、MOC-SCには凝集活性成分が複数含まれており、これまでの報告された精製方法では、その内アルカリ域で活性を示す成分のみが精製された、あるいは活性成分はもともと1種類であったが、精製過程で変性あるいは凝集活性成分と共同して働く補助成分が消失し、活性域が変化したことが考えられる。

よって本研究ではMOC-SCの内、中性付近でも凝集活性を示す精製物を得ることを目的とした。精製物に対する基本的な凝集特性の評価の他、実水道原水・フミン質を用いた評価も併せて行った。

2. 実験方法

(1) 凝集活性成分の抽出と精製

*M. oleifera*の種はフィリピン共和国のLos BañosのLaguna地方より採取した。種は現地にて鞘から取り出し、乾燥させて保存した。種皮は抽出の直前に剥き取り、乳鉢で粉碎して試料とした。1 gの試料に対して1 Mの塩化ナトリウム (NaCl) 水溶液100 mLを添加し、マグネチックスターラーで10分間攪拌することで凝集活性成分を抽出した^{23,4)}。抽出後に濾過 (ADVANTEC; 定量ろ紙 5A, 孔径約7 μ m) を行い、濾液を塩抽出液MOC-SCとした。

今回の検討では、これまでの検討^{10,11)}で得られたアルカリ域で活性を示す成分の精製方法を基に実用的な精製方法を検討した。その以前の凝集活性成分を精製、単離できる精製方法を以下に示すが、全体的には、夾雑物質を含むMOC-SC (a) から、透析による沈殿 (b)、沈殿物の脱脂 (c)、緩衝液への再溶解 (d)、陰イオン交換樹脂による分画分取 (e) という手順である。透析は排除分子量1,000の透析膜を用いて行い、MOC-SCから低分子量の共凝集物質と塩化ナトリウムを除去、凝集活性成分を含む低塩濃度で溶解度の低い成分を沈殿させた。この沈殿物を常温、デシケーターで乾燥させるが、ここでは通常、1 LのMOC-SCから約1.4 gの沈殿物が得られた。脱脂はアセトンを用いてホモジナイズすることで行い、脱脂された粉末は乾燥させた後、pH10.5の0.1 Mアンモニア緩衝液に再溶解させ、陰イオン交換樹脂 (オルガノ; アンバーライトIRA-900) に吸着後、塩化ナトリウムのグラジエントをかけて0.2-0.4 Mで溶出する凝集活性成分の画分を精製液とした。この精製液中の凝集活性成分の単一性は、GPCの溶出DOCのピークにより確認している。

(2) 中性付近で活性を持つ精製法の検討

中性付近で凝集活性を示す成分は、精製段階のいずれかの段階で消失、変性、あるいは成分の一部が欠落したと考えられたため、各精製段階において活性成分のpH依存性をpH4-10について調べた。

また精製方法の改良のため、沈殿物の脱脂後の再溶解を、上記のpH10.5の0.1 Mアンモニア緩衝液ではなく、種々の塩濃度のNaCl水溶液で行う検討を行った。ここでは沈殿物に、透析による沈殿前と同量の固液比のNaCl水溶液を添加して再溶解を行った液について、pH7での凝集活性を測定した。

(3) 凝集実験

ジャーテスターを用いた回分凝集実験を行った。まず、300 mLのビーカーに200 mLの試験水を入れ、6連式のジャーテスター (スギヤマゲン; NT-6) のパドルをサンブル水の中間の深さに挿入後、150 rpmで攪拌を行う。これに抽出液、精製液などの凝集剤を添加後、MOC-DWについて最適化された凝集条件を参考に¹²⁾、150 rpmで2分間の急速攪拌を行い、30 rpmの緩速攪拌を30分間行った。凝集剤添加後の急速攪拌時の初期に、塩酸とアンモニア水で、凝集pHを調整した。沈殿時間は1時間とし、静置後の上澄み液を測定した。

凝集には通常アルカリ度等の共存物質が必要であることと実際の上水処理への適応を検討しているため、水道水にカオリンを懸濁した懸濁液を試験水として用いた。この人工懸濁液のカオリン濃度は通常50 mg/Lとした。フミン質の凝集処理を検討する際には、市販の粉末フミン質を水道水 (中性) に1日以上攪拌により溶解させた5 mg/L水溶液を試験水として用いた。この際ろ過は行わなかったが、目視で不溶性物質は確認できなかった。フミン質としては実際の河川より抽出したもので、他の研究者らによく用いられている国際腐植学会 (International Humic Substances Society) のスワニー川から抽出したフミン酸とフルボ酸を用いた。実際の水道原水への効果を検討するため行った実貯水池水と実河川水を対象とした凝集沈殿実験では、広島県内の貯水池およびその貯水池直前の河川より原水を採取した。採水はそれぞれについて、比較的濁度とDOCが高い日に行った。

処理後の残留濃度 (濁度もしくはE254) により、対象成分 (濁質、フミン質) の処理能力を判断した。また、凝集剤無添加においても一連の攪拌と沈殿操作により多少の濁度の減少が起るため、凝集活性という値で評価した^{13,14)}。本研究で用いた凝集活性とは、次式で表される凝集剤を添加しない攪拌と沈殿を行うブランク実験の残留濃度に対する、凝集剤を添加した場合の濃度の低下

率である。

$$\text{凝集活性} = \frac{(\text{ブランク実験の残留濁度} - \text{凝集剤添加時の残留濁度})}{\text{ブランク実験の残留濁度}}$$

(4) 分析

濁度は積分球による透過散乱光の比較演算方式を用いた積分球式濁度計（東京光電株式会社；ANA-148）を用いて測定し、カオリンを標準とするmg-K/L（度）で表した¹⁰。DOCは試料を1 μm のガラス繊維ろ紙（Watman；GF/B, 1 μm ）でろ過後、TOC計（島津製作所；TOC-500およびTOC-5000）で測定した。実際には1 μm 以下の粒子や処理水中のマイクロフロックも存在すると考えられるが、ここでは上水試験方法¹⁰の溶存有機物質の定義を参考に、1 μm 以下を溶存画分とした。フミン質の指標であるE254の測定時も同様のろ過を行い、吸光度計（島津製作所；E-I200）を用いて、超純水を0とした254 nmの光の10 mmセルでの吸光度を測定した。pHは電極式のpH計（堀場製作所；F-8）で測定した。

3. 実験結果および考察

(1) 実用的なMOC-SCの精製法の検討

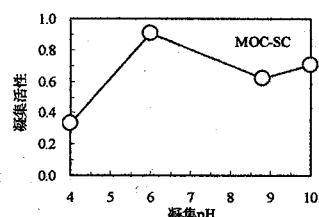
背景でも述べたようにMOC-SCは精製前には中性で凝集活性を示すが、精製物ではアルカリ域でのみ活性を示すことがわかっている^{10,11}。これはMOC-SCには凝集活性成分が複数含まれており、これまでの報告された精製方法ではその内アルカリ域で活性を示す成分のみが精製された、あるいは活性成分は1種類だが、精製過程で変性、もしくは凝集活性成分と共同して働く補助成分が消失し、活性域が変化したためだと考えられる。浄水処理で凝集活性成分を活用する場合、中性域で活性を持つことが要求される。そこで報告されている精製工程のどこで中性で活性のある成分の消失あるいは、活性域の変化が起こったかを明らかにし、中性で活性を持つ凝集活性成分を精製することを目的とした。ここでは実用観点から、完全な精製ではなく、凝集処理後にDOC増加を伴わないところまで精製されれば十分とした。

a) 凝集pHの影響

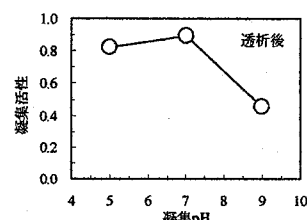
実験方法に示した(a)～(e)の各精製段階における、凝集活性のpH依存性を調べた。この検討では、透析後および脱脂後の試料は固体であるため、透析による沈殿前のMOC-SCと同量の1 MのNaCl水溶液に再溶解させた液の活性を調べた。添加量は懸濁液1Lに対して一律20 mLとした。この実験での塩濃度とアンモニア緩衝液濃度は表1のように一定でないが、予備実験により各精製液において、この範囲での塩濃度は凝集活性にほとんど影響しないことを確認している。

表1 抽出液および各精製液の各種濃度

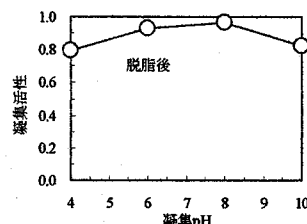
	MOC-SC	透析後	脱脂後	再溶解後	イオン交換後
DOC (mg-C/L)	1425	110	124	112	19.7
NaCl濃度 (M)	1.0	1.0	1.0	0.0	0.2
緩衝液濃度 (M)	0.0	0.0	0.0	0.1	0.1



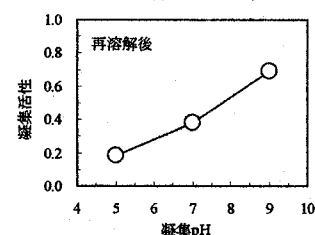
(a)



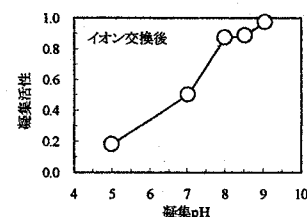
(b)



(c)



(d)



(e)

図1 抽出液および各精製液を用いた凝集へのpHの影響
(人工懸濁液 50 mg-K/L, 20 mL/L 懸濁液)

図1に結果を示すが、緩衝液による再溶解後の溶液(d)とイオン交換後の精製液(e)では、中性および弱酸性での凝集活性が低下し、アルカリ性でしか凝集能力を示さなかった。以上の結果は、再溶解の段階において中性域で働く凝集活性成分あるいは補助成分が回収されなかった、あるいは活性成分が変質したと考えられた。

b) 再溶解に用いる溶液の検討

上記の結果より、脱脂された沈殿を再溶解する段階が問題であることは明白であり、表1に示すように緩衝液による再溶解前後でDOCが1/10以下になっていることから、中性で働く活性成分の緩衝液では回収できなかった可能性が高いと考えられた。また、MOC-DWとMOC-SCでは凝集活性成分が異なることは、高塩濃度でのみ抽出可能な成分が存在することを意味する。これまで行われてきた精製方法では、再溶解の段階で0.1 Mアンモニア緩衝液が使われており、塩濃度として考えれば、抽出時の1.0 MのNaClに比べると著しく低い。そのため、高塩濃度で抽出された成分が、再溶解の過程で回収されなかった可能性が高い。そこで脱脂後の沈殿物の再溶解に用いるアンモニア緩衝液に代え、種々の濃度のNaCl水溶液を加えて再溶解を行った後、再溶解液のpH7での凝集活性を調べた。凝集活性は1Lの懸濁液に対して4 mlの添加量で測定した。

結果を図2に示す。pH7における凝集活性は再溶解に用いるNaCl濃度の増加に伴って増加し、0.2 M以上の塩濃度で0.9以上の凝集活性を示した。また、再溶解時の炭素回収量(再溶解液の溶存炭素濃度)も図2に示したが、凝集活性と同様の挙動を示した。よって、精製工程の再溶解時に中性付近で働く凝集活性成分が回収されなかったのは、塩濃度(イオン強度)の不足によるものであると結論づけられる。以降、脱脂後に0.3 MのNaCl水溶液で再溶解した溶液は、PP-MOC-SC (practically purified MOC-SC) と表記する。

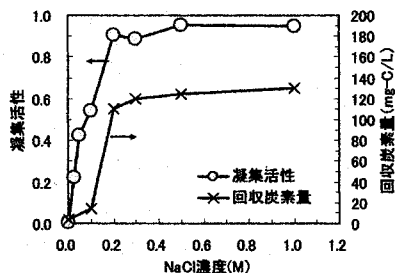


図2 脱脂後の沈殿の再溶解液のpH7での凝集活性
(人工懸濁液 50 mg-K/L, pH7, 精製液 4 mL/懸濁液)

(2) PP-MOC-SCの凝集特性

PP-MOC-SCの実用性を検討するため、添加量と濁質除去および残留DOCの関係、凝集pHおよび凝集温度の影響を検討し、それぞれ図3-5に示す。添加量については12 mg-C/L以上、液量で表すと1 Lの試験水に対して約5 mlの添加で濁度を1.2 mg-K/L、凝集活性で0.95以上の最適な凝集を行えることがわかった。また、PP-MOC-SCの過剰注入でも残留濁度の増加はそれほど顕著ではなかった。処理後の残留DOCは、凝集剤が不足している低い添加量では若干の増加が見られたが、濁質に対する最適な添加量付近においてはむしろDOC濃度の低下が起こり、一部の溶存有機物質については処理されているようであった。

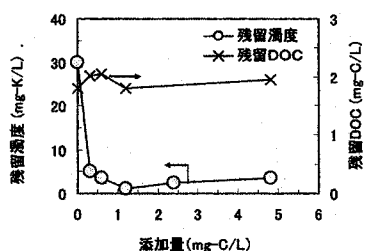


図3 PP-MOC-SCの濁質の凝集
(人工懸濁液 50 mg-K/L, pH7)

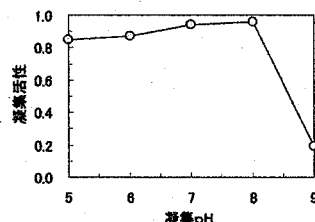


図4 PP-MOC-SCの凝集へのpHの影響
(人工懸濁液 50 mg-K/L, 添加量 1 mg-C/L前後)

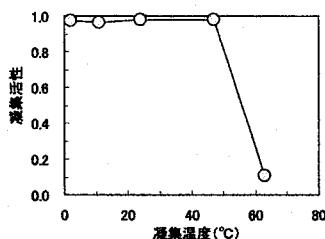


図5 PP-MOC-SCの凝集への温度の影響
(人工懸濁液 50 mg-K/L, 添加量 24 mg-C/L, pH7)

凝集pHの影響は6-8の中性付近ではほとんど無く、いずれも高い凝集活性を示したが、pH 9では凝集活性が大きく低下することが分かった。PP-MOC-SC中の凝集活性成分は他の高分子凝集剤のような高分子電解質であると考えられ、この凝集pHの影響はアルカリ性では高分子電解質の電荷も対象粒子と同様にマイナスになり、凝集

剤と粒子が吸着しにくくなるためと考える¹⁶⁾。

また凝集温度は通常温度域では問題ないが、50℃を超えると極端に凝集活性が低下することが分かった。この急激な凝集活性の低下の理由としては、凝集活性成分が蛋白質であることが考えられる。通常、蛋白質は熱により水和・高次構造の変化などにより変性するため¹⁷⁾、その変性により凝集に必要な官能基や極性が失われ、凝集活性が低下したと考える。

(3) 水道原水を用いた評価

実際の水道原水への効果を検討するため、貯水池水と河川水を用いた凝集沈殿処理を行った結果を図6に示す。貯水池水に対して約1.2 mg-C/LのPP-MOC-SC添加で、濁度を初期の16.0 mg-K/Lから0.8 mg-K/Lまで低下できた。河川水に対しては約0.6 mg-C/Lの添加量で、初期濁度18.4 mg-K/Lを0.5 mg-K/Lまで低下できた。

図6には各添加量におけるDOC、およびフミン質の指標であるE254の変化も併記した。DOCはいずれの原水に対しても増加せず、むしろ若干の減少が確認された。E254は共に添加量の増加に従って減少しており、例えば河川水に対しては1.2 mg-C/Lの添加量で、初期の0.075から0.045以下（初期の約60%）に低下した。よってPP-MOC-SCは一部の溶存フミン質を凝集できることがわかった。先述のように図6では、DOCはほとんど除去できておらず、PP-MOC-SCがフミン質を特異的に除去できているか、PP-MOC-SC中にアセトンなどの不純物が若干残留しておりDOCの除去を相殺している可能性も考えられた。

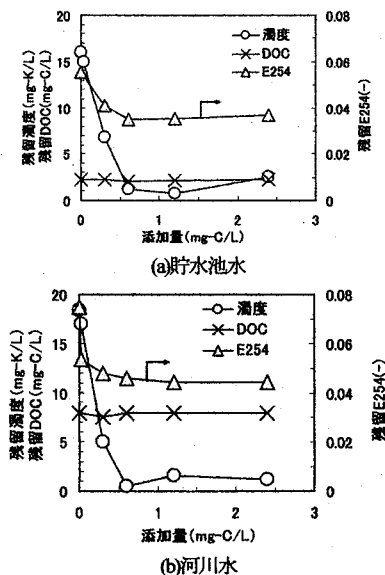


図6 実際の水道原水に対する凝集能力
(PP-MOC-SC, pH7)

フミン質の凝集処理について更に検討するため、スロニ川より抽出された分子量の小さいフルボ酸と大きいフミン酸¹⁸⁾の水溶液に対するPP-MOC-SCの凝集活性を調べた。ここでは濁度を添加しておらず、E254に対しての最適なPP-MOC-SC添加量で比較した。PP-MOC-SCは約4 mg-C/Lの最適添加量において、フルボ酸、フミン酸に対して、E254をそれぞれ初期の63%、81%に低下できた。他社の市販フミン酸を用いた場合も、最適添加量で86%に低下と、同様の結果であった。よって、2種類のフミン質水溶液を比較した場合、フミン酸に対する凝集活性がフルボ酸に比べて高く、比較的高分子量のフミン酸の方が凝集しやすいことが分かった。

4. 結論

本研究では熱帯植物 *Moringa oleifera* の種から塩水抽出される凝集活性成分の内、中性付近でも凝集活性を示す精製物を得ることを目的とし、精製物に対する基本的な凝集特性、実水道原水・フミン質を用いた評価を行った。

その結果、塩水抽出液を透析処理し、凝集活性成分を沈殿させ、脱脂後に0.3Mの塩化ナトリウム水溶液に再溶解させることで、常温、中性付近で濁度に対して高い凝集活性を示す成分を抽出できた。この成分を使った凝集ではDOCの増加は見られず、むしろフミン質、特にフミン酸のような比較的高分子量の溶存有機物質に対しても一定の処理効果を示した。またこの成分を貯水池水と河川水に対しても試験したところ、濁度とE254をそれぞれ95%以上、40%程度低減できた。

謝辞：本研究への呉市水道局の協力に特に感謝する。この研究を進めるにあたり多くの点で御助力をいただいた広島大学の元教員のAloysius U. Baes博士、正藤英司博士、広島大学環境安全センターの八木万理子氏、坂下秀樹氏、フィリピン大学のMaxima E. Flacior助教授に感謝する。

参考文献

- 1) Suleyman A. M. and Lilian M. E.: Optimizing Physical Parameters Affecting Coagulation of Turbid Water With *Moringa oleifera* Seeds, Water Research, Vol. 29, No. 12, pp. 2689-2695, 1995.
- 2) Olsen A.: Low Technology Water Purification by Bentonite Clay and *Moringa Oleifera* Seed Flocculation as Performed in Sudanese Villages : Effects on Schistosoma Mansonii Cercariae, Water Research, Vol. 21, pp. 517-522, 1987.
- 3) Christopher R. S. and Daniel A. O.: Treating Surface Water for Communities in Developing Countries, Journal of American Water Works Association, Vol. 75, No. 5, pp. 212-223, 1983.
- 4) Jahn S. A. A.: Using *Moringa* seeds as coagulants in developing countries,

- Journal of American Water Works Association, Vol. 80, No. 6, pp. 43-50, 1988.
- 5) Ndabigengesere A. and Narasiah K. S.: Use of *Moringa oleifera* Seeds as a Primary Coagulant in Wastewater Treatment, *Environmental Technology*, Vol. 19, pp. 789-800, 1998.
 - 6) Suleyman A. M. and Charles A. O.: Coagulation of Low Turbidity Surface Water with *Moringa oleifera* Seeds, *International Journal of Environmental Studies*, Vol. 48, p. 263-, 1995.
 - 7) Ursula G., Klaus D. J., Bernhard Tauscher, Heinz Niebergall: Isolation and Characterization of a flocculating protein from *Moringa oleifera* Lam, *Biochimica et Biophysica Acta*, Vol. 1243, p. 477-, 1995.
 - 8) Ursula G., Klaus D. J., Bernhard T.: Chemical Properties of Flocculant-active Proteins from *Moringa oleifera* lam, *Biological Chemistry Hopper-Seyler*, Vol. 372, p. 659-, 1991.
 - 9) Ndabigengesere A. and Narasiah K. S.: Quality of Water Treated by Coagulation using *Moringa oleifera* Seeds, *Water Research*, Vol. 32(3), 781-791, 1998.
 - 10) Okuda T., Baes A. U., Nishijima W. and Okada M.: Improvement of Extraction Method of Coagulation Active Components from *Moringa oleifera* Seed, *Water Research*, Vol. 33, No. 15, pp. 3373-3378, 1999.
 - 11) Okuda T., Baes A. U., Nishijima W. and Okada M.: Isolation and Characterization of Coagulant Extracted from *Moringa oleifera* Seed by Salt Solution, *Water Research*, Vol. 35, No. 2, pp. 405-410, 2001.
 - 12) Ndabigengesere, A. and Narasiah, K. S.: Influence of Operating Parameters on Turbidity Removal by Coagulation with *Moringa oleifera* Seeds, *Environmental Technology*, Vol. 17, pp. 1103-1112, 1996.
 - 13) Minoru T., Ryuichiro K., Junichi K. and Nakamura I.: A Protein Bioflocculant Produced by *Rhodococcus erythropolis*, *Agricultural Biological Chemistry*, Vol. 55, No. 10, pp. 2663-2664, 1991.
 - 14) Lee S. H., Lee S. O., Jang K. L. and Lee T. H.: Microbial flocculant from arcaudendron SP-49, *Biotechnology Letters*, Vol. 17, No. 1, pp. 95-100, 1995.
 - 15) 日本水道協会, 上水試験方法, 2001.
 - 16) 和田洋六, pp. 5-11, 造水の技術, 2004
 - 17) 三浦謙一郎, タンパク質工学, pp. 35-36, pp. 263-265, 1988
 - 18) Christensen J. B., Jensen D. L., Gron C., Filip Z. and Christensen T. H.: *Water Research*, Vol. 32, No. 1, pp. 125-135, 1998.

(2006. 5. 26 受付)

Practical Purification of Coagulation Active Component Extracted from *Moringa oleifera* seeds by Salt Solution and Its Performance

Tetsuji OKUDA¹, Wataru NISHIJIMA¹, and Mitumasa OKADA²

¹Environmental Research Management Center, Hiroshima University

²Director • Vice President, Hiroshima University

The coagulation active component in the solution (MOC-SC) extracted from *Moringa oleifera* seeds by salt solution could coagulate not only turbid materials but also humic substances. The purified solution from MOC-SC with dialysis, defatting and redissolution with 0.3 M NaCl solution was determined as practical coagulant which can work at neutral pH. The coagulation activity of the practical purified solution was demonstrated using real reservoir and river water, and it could decrease turbidity and E254 with over 95% and about 40%, respectively.