

第3章 タンパク質の泡沫生成能および懸濁粒子への吸着特性

水処理の薬剤としてタンパク質を利用するに当たっては、その薬剤としての機能を評価し、理解しておくことが不可欠である。懸濁物除去を目的とした泡沫分離法においては、泡沫を生成する起泡剤および懸濁物・フロック界面を疎水化する捕集剤の両方の機能を効果的に発揮するタンパク質を用いなければならない。したがって、タンパク質を用いた泡沫分離法による濁水の処理特性を把握し、除去機構を解明するためには、予め、適切なタンパク質の界面化学的性質に関する知見を獲得しておくことが必須である。

そこで、本章では、タンパク質の泡沫生成能に及ぼす要因ならびに懸濁粒子に対する吸着特性について検討することとした。

3.1 泡沫生成能の測定方法¹⁾

泡沫によって、懸濁物、あるいはその凝集体（フロック）を分離・回収するためには、泡沫が安定かつ連続的に生成されなければならない。したがって、タンパク質の性質を把握し、泡沫分離法に適したタンパク質を評価・選定するためには、送気している動的状態において、泡沫の安定度を考慮した尺度で泡沫生成能を測定する必要がある。

しかし、泡沫の測定および評価の方法は様々である。泡沫の生成（泡立ち）には、起泡性（泡立ち易さ）と泡沫安定度（泡沫の消え難さ）の二つの因子が相互的に関与し、これら2因子の総合効果として泡沫が生成され则认为られている。古くから泡沫生成に関する研究が報告されてきているが、その研究の目的ごとに測定方法と泡沫生成の尺度は種々異なっている²⁾。一般に、洗剤などの合成界面活性剤の起泡性は、Ross-Miles法³⁾をもとにした落下方式の試験法によって評価される。Ross-Miles法は、試験液を一定の高さから落下させて泡沫を生成させた後に、泡沫の量を高さとして測定する静的な試験法で、再現性は高いものの、泡沫が生成される過程の動的な把握は困難である。また、設計条件に合わない泡沫物性を持った溶液には不適切であることが示唆されている⁴⁾。

そこで、微細気泡の供給によって水面上に生成してくる泡沫の動的観測を行い、泡沫分離法に用いるタンパク質の泡沫生成能を評価できる試験法を見いだすことを目的とした。

3.1.1 実験方法

(1) 装置

本実験に用いた装置を図-3.1に示す。気泡供給-泡沫生成塔（以降、泡沫生成塔とする）本体は、塔高100cm、内径2.6cmの亚克力管から成り、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（木下理化工業製、501G-4、公称ポアサイズ5~10 μ m）を取り付けた。通気ガスには空気を用い、送気ポンプ（レイシー社製、AP-115型）および流量計（小島製作所製、RK1600R

型)によって所定の流量に調整して塔内に通気した。

(2) 試料の調製

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10,000mg/L) は, それぞれの試薬を0.01N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) については, 50~60℃程度の温蒸留水で溶解させて 1,000mg/Lの標準溶液を作成した。この5種類のタンパク質はいずれも界面活性を有することが広く知られ, かつ安価で市販されている物質である。陰イオン界面活性剤である直鎖ドデシルベンゼンスルホン酸ナトリウム ($C_{12}H_{25}C_6H_4SO_3Na$, 分子量348.48, 含量99.0%以上, 標準品, 和光製薬製, 以降, LASとする) は, 蒸留水に溶解して標準溶液 (1,000mg/L) を作成した。

タンパク質の泡沫生成能はpHによって変化する⁵⁾と考えられる。pHの変化を防ぐため, 試験液は, リン酸一カリウム (7.5mM) とリン酸二ナトリウム (7.5mM) を用いてpHを6.9に固定し, 標準溶液を加えて所定濃度となるように調整した。

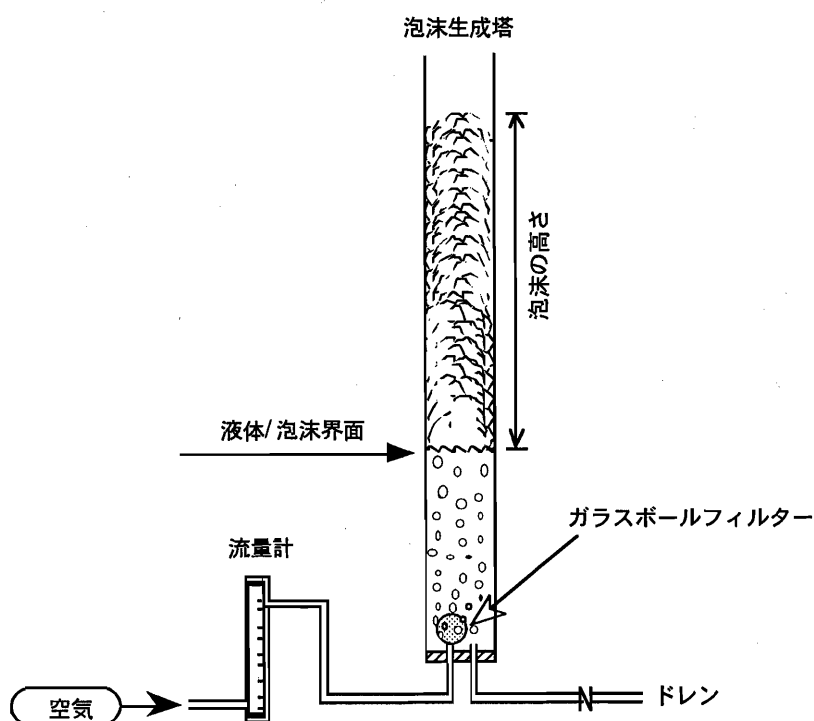


図-3.1 送気式泡沫発生装置.

(3) 泡沫の測定方法

図-3.1に示した装置に一定流量 (0.3L/min) の空気を送気して微細気泡を供給し, 試験液100 mLを気液接触塔の上部から壁面に沿って注入した。続いて, 泡沫生成の様子を観察し, 注入直後から60秒間内における液体/泡沫界面から泡沫の到達点の高さを定規で測定した。

(4) 試験条件の検討

試験液の温度, 送気量, ならびに試料の容量のいずれか一つを変化させ, その他は所定条件に固定

して各条件が泡沫の高さに及ぼす影響と適切な試験条件を検討した。試験液は、5mg/L (pH6.9) のカゼイン溶液を用いた。試験液の水温は0~50℃, 送気量は、0.1~1.0L/min, 試料は25~150mLの範囲で変化させて、それぞれの条件における泡沫の高さを測定した。

(5) 陰イオン界面活性剤とタンパク質の泡沫生成試験

本法による起泡性の評価の妥当性を検討するため、LASを用いて本法による試験を行った。蒸留水にLASを所定の濃度 (1~10mg/L) になるように加えて試水を作成した。泡沫の高さの測定は、それぞれの濃度区について3回行い、一連の試験を4回繰り返した。つぎに、カゼイン、アルブミン、ヘモグロビン、大豆タンパク、およびゼラチンの起泡性を調べた。試験液のpHは中性リン酸緩衝液で6.9に固定し、それぞれの実験濃度区は60秒内に60cm以上に達する濃度を上限とし、適当な範囲に設定した。

3.1.2 結果と考察

(1) 泡沫の到達点の変化

濃度の異なるカゼイン溶液を作成し、これを泡沫生成塔に注入し、注入終了時からの送気時間と水面上に生成される泡沫の高さの変化を追跡した (図-3.2)。カゼイン濃度が1mg/Lでは、カゼイン無添加の場合と比較すると、水面上には不安定な泡沫が生成される傾向は認められるものの、連続的に供給される気泡によって消泡し、泡沫は生成されなかった。3mg/Lおよび5mg/Lでは、注入直後から水面上に泡沫の生成が開始され、つぎつぎに泡沫

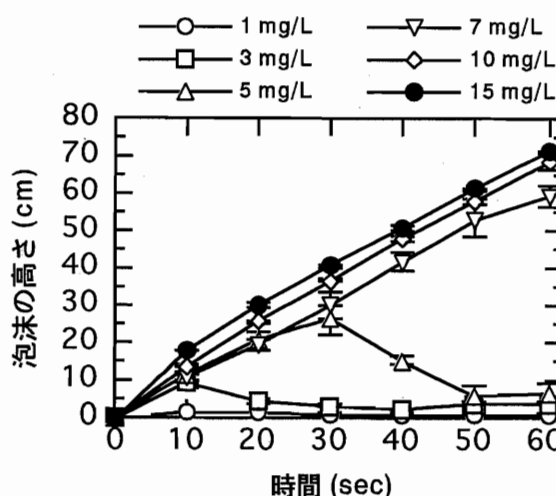


図-3.2 送気時間と泡沫層の高さの変化.
空気流量0.3 L/min; 試料容量 100 mL;
水温 20℃; pH 6.9; n=3, 平均±SD.

が供給されて泡沫の量は時間の経過とともに増加し、ある時間まで泡沫は筒内で上昇を続けた。上昇を続けていた泡沫は、液相からの泡沫の供給量が減少・停止するか、あるいは先に生成された泡沫の一部が崩壊して、一つの層をなしていた泡沫が2つ以上に分裂した。その直後、泡沫部分の一部は塔内に残り、それ以外の泡沫は連続的に消滅した。その後も泡沫は生成されたが、その高さが分裂時の到達点を越えることはなく、分裂時の泡沫の高さを3回測定した結果、ほぼ一定の高さを示した。7mg/Lでは、50~60秒後において初期に生成された部分の泡沫が消泡した。10mg/Lと15mg/Lでは、60秒間継続して安定泡沫が生成され続け、泡沫は管内を上昇し続けた。

(2) タンパク質の濃度と泡沫の高さの関係

カゼインの濃度を1~10mg/Lで変化させ、それぞれの濃度について60秒間内における泡沫の到達点の高さを測定した。一濃度区について3回測定し、一連の実験を3回繰り返した。3回のいずれの実験も極めて良く一致した結果を示し、5mg/Lにおける繰り返し精度は変動係数で4.1%であった (図

-3.3)。1 mg/Lでは高さを測定できるほど泡沫が生成されなかった。泡沫は3~7mg/Lの範囲におけるカゼイン濃度と泡沫の高さは良い直線関係にあった。10mg/Lでは60秒間継続して泡沫が生成され、泡沫は上昇を続けたため、60秒のときの距離を示した。なお、10mg/Lよりも高い濃度では、60秒における到達点は一致した。これは、送気量と時間を一定にしているため、所定時間以上でも泡沫を生成できる試験液（カゼインの濃度が10mg/L以上の場合）については、その時間によって到達点の高さが決定されるためである。

試験液の水温、容量、および送気量の条件を固定した場合には、カゼイン溶液の注入後の泡沫分裂・消失時の高さ（以降“泡沫の高さ”と定義する）は、カゼイン溶液の泡沫生成能を評価する一つの尺度となることがわかった。この“泡沫の高さ”による尺度において、泡沫生成能の高い物質、あるいは高くなる条件が、泡沫分離法に適する物質、あるいは適する処理条件と判断される。

(3) 温度の影響

カゼインの濃度を5mg/L (pH6.9に固定) で一定とし、この溶液の水温を0~50℃の範囲で変化させて、それぞれの温度における泡沫の高さを測定した (図-3.4)。0~1℃における泡沫の高さは最も低く17cm程度であり、温度の上昇とともに高くなり、50℃では1℃の約4倍の60cmに達した。カゼインの泡沫生成能は温度に依存し、水温が高い方がその能力は高くなることが明らかとなった。また、カゼイン水溶液を一度50℃としてから再び20℃に下げた場合においても、20℃のときとほぼ同じ泡沫の高さ (34.4±2.5cm, n=3) を示した。低温の方がタンパク質分子間の結合が強く、低温の方が会合の度合いが大きくなる⁶⁾。カゼインは会合しやすい性質をもっていることから、温度によって起泡性が高まった理由は、温度の上昇によって会合していたカゼイン分子が解離して界面活性に寄与する分子数が増加したためと考えられる。この反応は可逆的であった。水温は泡沫の生成量を支配する重要な要因であり、泡沫の測定に際して試験液の水温は、制御しなければならない項目の一つであることがわかった。本法では、試験に供する試料の水温を20±1℃に調節することにした。

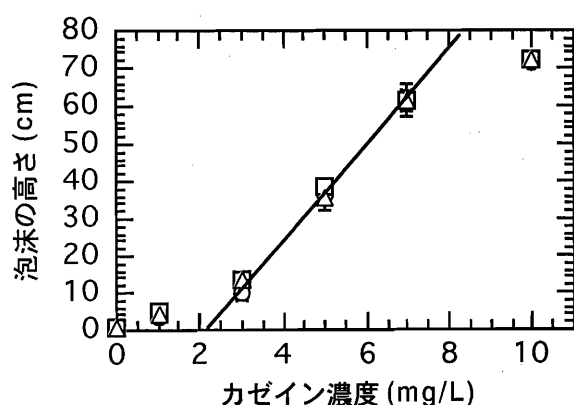


図-3.3 カゼイン濃度と泡沫の高さの関係。
(繰り返し実験3回)
空気流量, 0.3 L/min; 試料容量, 100 mL;
水温, 20℃; pH6.9; n=3, 平均±SD.

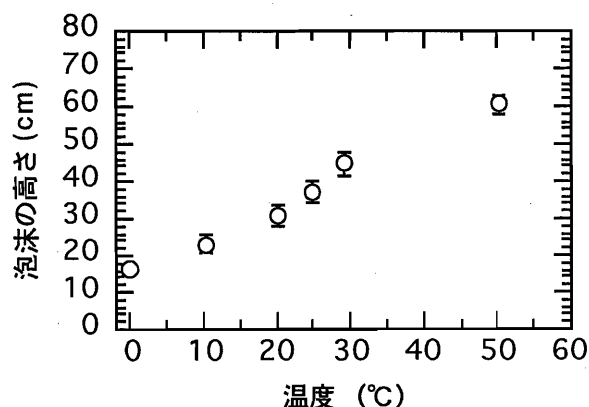


図-3.4 泡沫生成に及ぼす水温の影響。
カゼイン, 5 mg/L; 空気流量, 0.3 L/min;
試料容量, 100 mL; pH6.9; n=3, 平均±SD.

(4) 送気量

送気量と泡沫の高さの関係を図-3.5に示した。送気量の増加に伴って、到達点の高さは増加した。試験液への気泡の供給量によって泡沫の生成量が支配されるため、泡沫を測定する場合には、送気量を固定しなければならない。本装置の気液接触塔は、100cmであり、この範囲内で泡沫の到達点の位置の変化から試験液の泡沫生成能を調べることを目的とすることから、送気量は過小でも過大でも適当でない。したがって、泡沫の測定における送気量は、0.3L/minが適切であると判断した。

(5) 試験液の容量

泡沫生成塔に注入する試験液の容量と泡沫生成の関係を調べた。カゼインの濃度を 5.0mg/L、送気量を 0.3L/minの一定とし、試験に用いる溶液を25~150 mLの範囲で変化させ、それぞれの容量における到達点の位置を測定した。試料の容量の増加に伴って、泡沫の到達点も直線的に高くなった(図-3.6)。カゼインの濃度が一定の場合、泡沫の生成に寄与するカゼインの絶対量はその容量に比例する。容積の大きい方がカゼイン量が多いため泡沫の生成量が増加したと考えることができる。そこで、本試験では試験液を100mLに固定することとした。

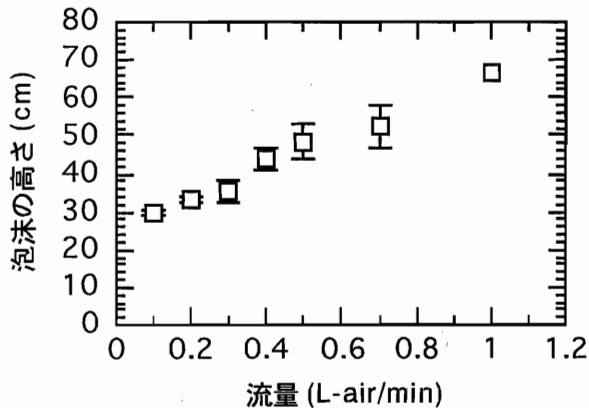


図-3.5 送気流量と泡沫の高さの関係。
カゼイン, 5mg/L; 試料容量, 100 mL;
水温, 20°C; pH 6.9; n=3, 平均±SD.

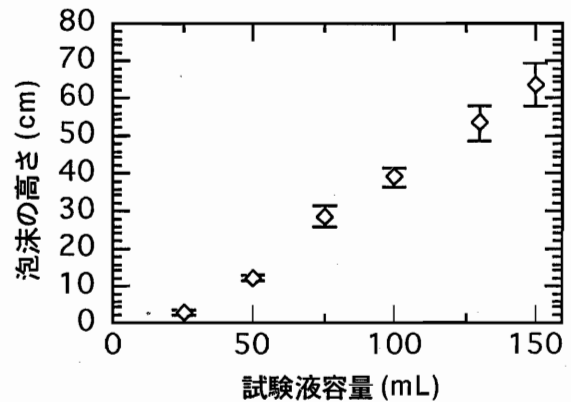


図-3.6 試料容量と泡沫の高さの関係。
カゼイン, 5 mg/L; 空気流量, 0.3 L/min;
水温, 20°C; pH 6.9; n=3, 平均±SD.

(6) 陰イオン界面活性剤

LASの泡沫の高さは濃度に依存し、濃度の増加とともに直線的に増加した(図-3.7)。5mg/Lでは30cmを超え、10mg/Lでは60cm以上に達した。また、同じ濃度区における繰り返し実験の精度は高く、5mg/Lにおける泡沫の高さの変動係数は10.0%であった。LASの30cmの泡沫を生成させるために必要な添加濃度を見積もると、4.6mg/Lとなった。泡沫の高さを測定することによって、LAS濃度の違いによって生ずる泡沫生成能の変化を適切に評価できることがわかった。

(7) 種類の異なるタンパク質

カゼイン、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、それぞれの濃度に対する泡沫の高さの変化を図-3.8に示した。カゼインは5つのタンパク質の中で最も泡沫生成能が高く、低濃度において高い泡沫を生成し、5mg/Lで36cmとなり10mg/Lで70cmに達した。次いで、ヘモグロビンも低濃度で高い泡沫生成能を示し、10mg/Lで41cmとなった。つぎに大豆タンパクが

泡沫生成能が高く、10mg/Lで13cm、20mg/Lでは39cmの泡沫を生成した。そして、ゼラチン、アルブミンの順に泡沫生成能は低くなった。図-3.8から、30cmの泡沫を生成させるために必要な添加濃度を見積もると、低い方から順（すなわち泡沫生成能が高い順）にカゼイン、ヘモグロビン、大豆タンパク、ゼラチン、およびアルブミンは、それぞれ4.4、7.1、16.1、22.2、および28.0mg/Lとなった。本実験で用いたリン酸緩衝液中では、カゼインの泡沫生成能は、合成界面活性剤であるLASの蒸留水中における泡沫生成能に匹敵することが明らかであった。

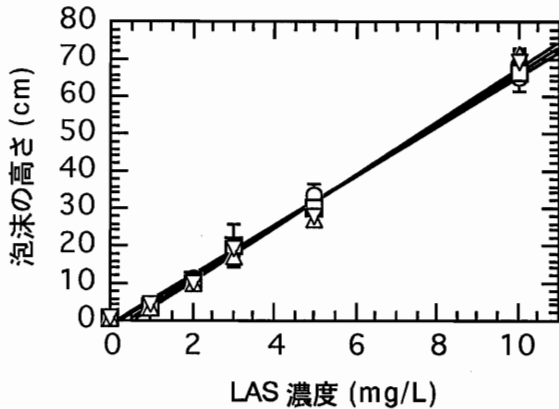


図-3.7 LAS濃度と泡沫の高さの関係。
(繰り返し実験4回)
空気流量, 0.3 L/min; 試料容量, 100mL;
水温, 20°C; pH 5.52~5.63; n=3, 平均±SD.

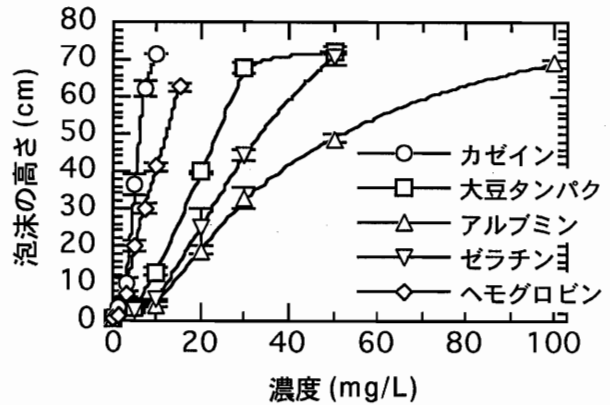


図-3.8 5種類のタンパク質の濃度と泡沫の高さの関係。
空気流量, 0.3 L/min; 試料容量, 100mL;
水温, 20°C; pH 6.9; n=3, 平均±SD.

3.1.3 測定方法の確立

試験液に気泡を送気して動的な状態において、泡沫が連続的に生成され、次いで、その泡沫層が分裂し消失する。この分裂・消失する直前の泡沫層（柱）の高さは、タンパク質および界面活性剤の泡沫生成能を評価する一つの指標に成り得ることがわかった。試験液の水温、容量、および送気量は、泡沫の高さに大きく影響を及ぼすため、試験を行う場合には所定の条件に固定しなければならない。

本試験法を以下に示す。図-3.1に示した装置に一定流量（0.3L/min）の微細気泡を供給し、試験液100mL（水温20°C）を泡沫生成塔（塔高100cm、内径2.6cmの亚克力管）の上部から注入する。泡沫生成の様子を観察し、注入直後から60秒内における液体/泡沫界面から泡沫層が分裂・消失するときの高さを定規で測定する。この一連の操作を一試験液について、それぞれ別途に3回測定して、その平均値を求め、その試験液の泡沫の高さとする。

3.2 タンパク質の泡沫生成能に影響を及ぼす要因⁷⁾

タンパク質の構造や諸性質に関する生物化学的研究は極めて多く、有益な知見が集積されてきている。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り、さらに溶液のpHや共存物質によって変性し、多様な性質を示すことが知られている。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^{2), 3)}ものの、一方で、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。

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。そこで本節では、タンパク質の泡沫生成に影響を及ぼす要因として、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、タンパク質の泡沫に関する基礎的知見を得ることを目的とした。

3.2.1 実験方法

(1) 試薬の調製

タンパク質；カゼイン(乳製)、大豆タンパク、アルブミン(卵製)、ならびにヘモグロビン(牛血製)の標準溶液(1,000または10,000mg/L)は、それぞれの試薬を0.01Nの水酸化ナトリウム水溶液に溶解して作成した。ゼラチンについては、50~60℃程度の温蒸留水で溶解させて1,000mg/Lの標準溶液を作成した。

陰イオン界面活性剤；LASおよび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)は、それぞれ蒸留水に溶解し、標準溶液(1,000または5,000mg/L)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(CaCl₂)、塩化マグネシウム(MgCl₂)、および塩化ストロンチウム(SrCl₂)を用いて50g/L(または25g/L)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(NaNO₃)、硫酸ナトリウム(Na₂SO₄)、炭酸水素ナトリウム(NaHCO₃)、およびリン酸水素二ナトリウム(Na₂HPO₄)を用いて50g/L(または25g/L)の標準溶液を作成した。

(2) 試料の調整

(a) pHの変化

蒸留水にカゼインを所定濃度になるよう添加し、塩酸(0.1N, 1N)または水酸化ナトリウム水溶液(0.1N, 1N)でpHを変動させ、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。カゼインの実験と同様にして、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の影響を調べた。

(b) 塩濃度の影響

NaClとNaHCO₃：蒸留水にNaClを加えて所定濃度のNaCl水溶液を作成し、これを溶媒としてカゼインの泡沫の高さを測定した。NaCl濃度は、0~10,000mg/Lの範囲で変化させ、カゼインの濃度は5.0mg/Lの一定とした。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20mg/L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、NaHCO₃を用いて、カゼインとゼラチンの泡沫生成に及ぼす影響を調べた。NaHCO₃濃度は、0~1,000mg/Lの範囲で変化させ、カゼインとゼラチンの濃度はそれぞれ5 mg/Lと20 mg/Lの一定とした。なお、タンパク質濃度は、図

-3.8を参考にして、泡沫層高さの変化が追従できるように設定した。

陽イオン (Na^+ , K^+ , Mg^{2+} , Ca^{2+} , Sr^{2+}) : 塩化物として NaCl , KCl , MgCl_2 , CaCl_2 , および SrCl_2 を用いてそれぞれ所定濃度の水溶液を作成し、これを溶媒とした場合のカゼインの泡沫生成能を測定した。塩化物の濃度は、0~1,000mg/Lの範囲で変化させ、カゼインの濃度は5.0mg/Lの一定とした。 Na^+ , K^+ , Mg^{2+} , Ca^{2+} , および Sr^{2+} は、天然水(河川水, 海水)成分の主要な陽イオンである。

陰イオン (Cl^- , SO_4^{2-} , CO_3^{2-} , PO_4^{3-} , NO_3^-) : ナトリウム塩として NaCl , NaCO_3 , Na_2SO_4 , NaNO_3 , および Na_2HCO_3 を用いて、それぞれの所定濃度の水溶液を作成し、これを溶媒とした場合のカゼインの泡沫生成能を測定した。ナトリウム塩の濃度は、0~1,000mg/Lの範囲で変化させ、カゼインの濃度は5.0mg/Lの一定とした。 Cl^- , SO_4^{2-} , および CO_3^{2-} は天然水成分の主要な陰イオンであり、 PO_4^{3-} と NO_3^- は下水・排水中に高濃度に含まれる可能性の高い陰イオンである。

海水 : 蒸留水と人工海水⁹⁾を所定の割合(0~100%)で混合し、カゼインを5.0mg/L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。

(c) 陰イオン界面活性剤の影響

LASと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10mg/Lとなるように加え、LASの濃度を0.2~5.0mg/Lの範囲で変化させてこの溶液の泡沫の高さを測定した。また、カゼイン濃度が20mg/Lの場合についても、LASの濃度を0.2~3.0mg/Lとして測定した。LASと同様にして、SDSの共存下におけるカゼインの泡沫生成について調べた。カゼイン濃度が10mg/Lと20mg/Lの場合について、SDSの濃度をそれぞれ1.0~10mg/Lと0.5~20mg/Lの範囲で変化させて、それぞれの条件における泡沫の高さを測定した。

(3) 泡沫生成能の測定方法

3.1.3 (p.23)に従って測定した。

(4) 紫外線吸収スペクトルの測定

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(加熱処理, 電子線処理)によって吸収の変動が認められることがある¹⁰⁾。そこで、pHとNaClの影響によるタンパク質(カゼイン)の分子構造の変化を調べるため、紫外線吸収スペクトルを測定した。カゼイン濃度は20mg/Lの一定とし、pHについては、強酸性, 強アルカリ性, および中性付近で5種類の溶液を、また、NaClについては、0, 30, 100, 10,000mg/Lの濃度の溶液を作成した。各試料は5cmの石英セルに取り、分光光度計(島津UV2200型)を用いて240~300nmの範囲の吸光スペクトルを測定した。また、それぞれの溶液のpHも測定した。

3.2.2 結果と考察

(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によって電解質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と図-3.9に示した。1~10mg/Lのいずれの濃度区においても、pH4以下ではpHの低下に伴って泡沫の高さが増加し、pH5~10の範囲の泡沫の高さと比較して2~10倍以上高く、pH11より高くなると再び

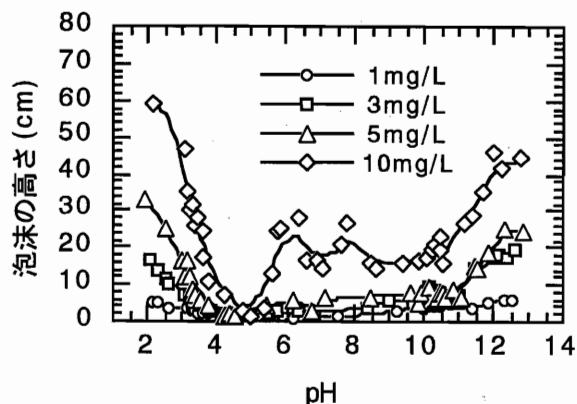


図-3.9 カゼインの泡沫生成能に及ぼすpHの影響.

泡沫の高さは増加する傾向を示した。同じpHでみると、カゼインの濃度に依存して泡沫も高くなった。また、カゼインの等電点であるpH4.6付近では白濁し、10mg/Lにおいても全く泡沫は生成しなかった。10mg/Lの場合においては等電点付近を除くpH条件では約20~60cmの高い泡沫を生成したことから、カゼインは等電点において泡沫生成能が極端に低下する性質が明らかであった。

カゼイン水溶液は、酸性およびアルカリ性の両条件下において泡沫を生成する性質を有しており、泡沫生成能は、pHに強く依存することが明らかであった。この要因の一つとしてカゼインの変性が考えられる。カゼインは分子内の水素結合、疎水性結合、またはイオン結合によって密な構造をしている球状タンパク質の一つであり、両性電解質であるから、それらの解離性のアミノ酸残基が強酸性および強アルカリ性の条件下では、それぞれ陽性および陰性の荷電を強く生じる。同荷電の反発によって中性付近では密な構造をとっていたポリペプチド鎖が強酸性あるいは強アルカリ性下では、ほどけた状態（変性）に移行するため、これまで分子内部に埋もれていた疎水性の部位が溶媒に露出するようになる。したがって、強酸性および強アルカリ性の条件下では、溶媒に露出される疎水性と親水性の部位の数が増加して界面活性を生じ、著しい泡沫の生成がみられたと考えられる。

もう一つの要因として、カゼインの解離・会合が考えられる。pHの変化は会合しているタンパク質分子の解離と会合に大きく影響を及ぼすことが知られており⁶⁾、変性によって解離・会合が引き起こされる。カゼインは、会合しやすい性質を持っていることから、水溶液中ではいくつかの分子が会合して存在し、pHの変化は、そのカゼイン分子の解離・会合に大きく影響を及ぼしたと考えられる。会合している分子は、1個の分子のように行動するので会合している分子が解離すれば、界面活性を示す分子が増加することになり、同濃度においても泡沫生成能は高まる。タンパク質の解離・会合は、1分子の僅かな構造の変化においても、あるいは変性を伴わなくても生じることから、カゼインの会合している分子は僅かなpHの変化によっても影響を受ける可能性が高い。強酸性および強アルカリ性以外のpH範囲（pH4~10）においてもカゼインの泡沫生成は大きく変動したが、この程度のpH変化で1分子の構造が大きく崩れるとは考えにくく、解離・会合が大きく寄与していたと考えられる。また、カゼインは等電点付近において分散していた分子が凝析してしまうため、界面活性を示さず、泡沫が全く生成されなかったと考えられる。

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(図-3.10)。アルブミン、ゼラチン、および大豆タンパクの濃度は、それぞれ20mg/Lとし、ヘモグロビンの濃度は10mg/Lの一定とした。

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、pH3付近とpH10付近ではアルブミンの泡沫は極小値を示し、泡沫はほとんど生成されなかった(図-3.10-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⁸⁾、図-3.10-aの泡沫の高さの変化と類似した挙動を示した。アルブミンとカゼインでは、同じ球状のタンパク質でも水に対する溶解性の違いによってpH4近傍の等電点における挙動は全く異なり、水溶性のアルブミンは極大値を示したのに対して、難水溶性のカゼインは、極小値を示した。すなわち、タンパク質の溶解性は等電点における泡沫生成能を左右する重要な因子であると考えられる。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とアルブミン同様に高い泡沫を生成した(図-3.10-b)。大豆タンパクの泡沫の高さは、pH7とpH11付近でピークを示し、特に強アルカリ性では、泡沫の高さは、それ以外のpHのときよりも3~4倍高い値を示し、泡沫生成能が著しく高くなる性質があった(図-3.10-c)。また、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

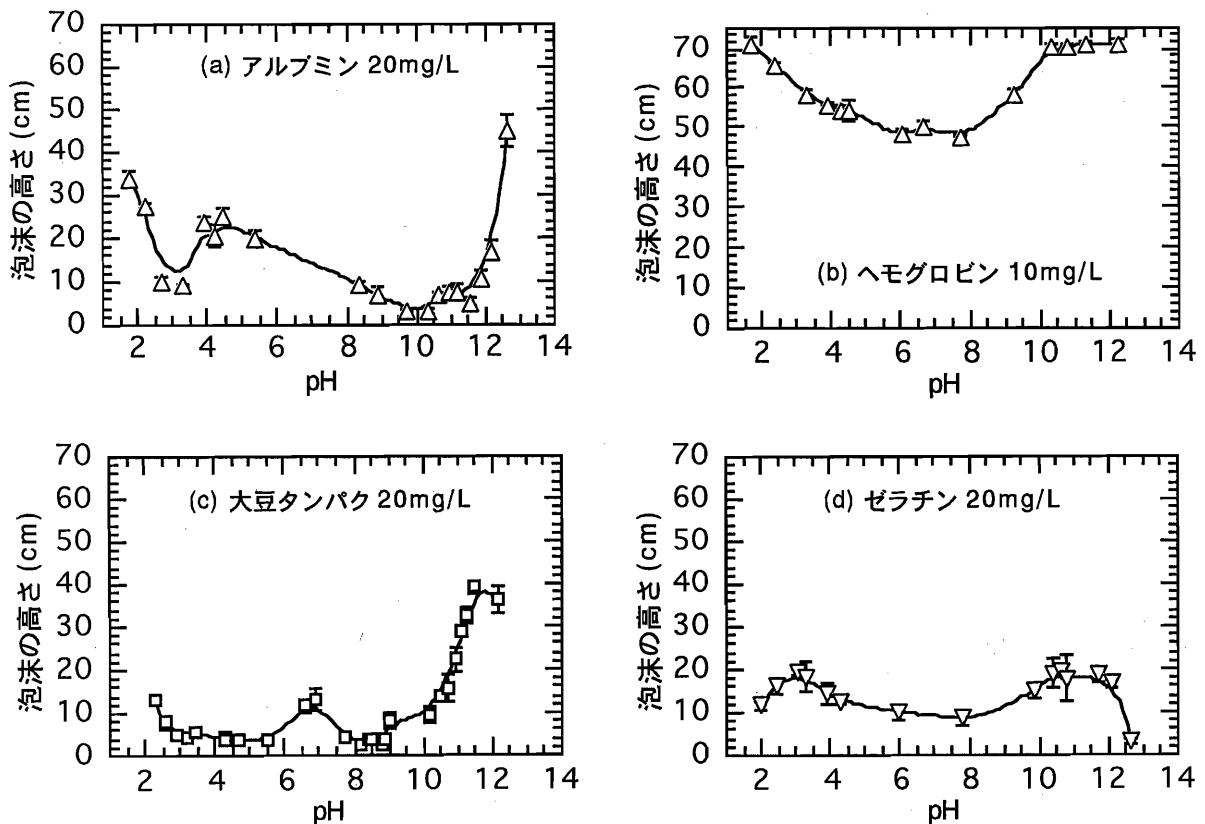


図-3.10 タンパク質の泡沫生成能に及ぼすpHの影響。

分（約80%）はグロブリンであるとされており¹¹，このタンパク質は水に不溶で，アルカリ性溶液に溶解し，弱酸性で反応する性質を持ち，等電点はpH5付近であるとされている。これらのことからpHの変化と大豆タンパクの泡沫生成能の関係は，グロブリンの性質を強く反映したものと推定された。大豆タンパクはカゼインと同様に，水に難溶性の球状タンパク質であり，これらは等電点において凝析するため，泡沫は生成されないことがわかった。一方，ゼラチンについてみると，pH3とpH11付近では泡沫は中性付近と比較して2倍程度高くなったが，強酸性（pH2以下）では低下の傾向がみられ，強アルカリ性（pH12以上）では泡沫は極端に低くなった（図-3.10-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，高い泡沫性能を有するタンパク質を用いることが望ましい。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。

（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ている可能性が高く，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。塩類は，タンパク質の緒性質に影響を及ぼすことが知られている¹²。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。

（a）塩化ナトリウムと炭酸水素ナトリウム

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図-3.11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（5mg/L）ではpH6.72～6.07，アルブミン（20mg/L）ではpH9.77～9.55，ヘモグロビン（5mg/L）ではpH7.45～6.89，大豆タンパク（20mg/L）では10.18～10.07，ならびにゼラチン（20mg/L）では5.67～5.40の範囲で変化した。なお，ここではこれらのpHの変化は考慮

せずに考察を行うこととした。カゼインは，NaCl無添加での泡沫の高さは，8cm程度と極めて低かったが，NaCl濃度が10mg/Lでは2倍の15cmとなり，NaClの濃度の増加に伴って指数関数的に高くなり，10,000mg/L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となった。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。アルブミンについてみると，NaCl濃度が100mg/Lを越えると急激に泡沫は高くなり，それ以降増加を続

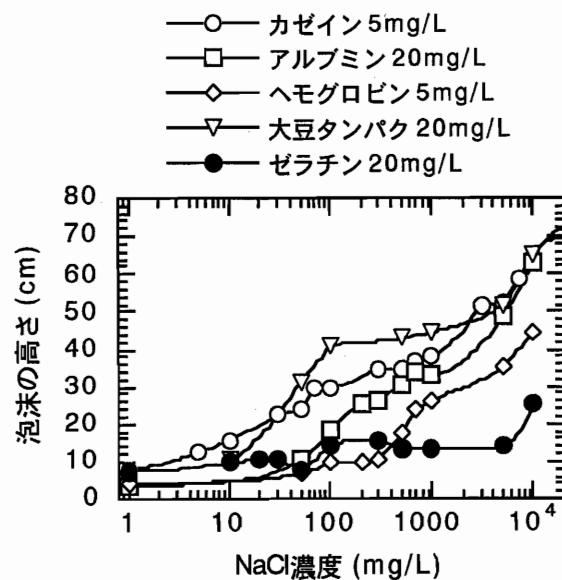


図-3.11 タンパク質の泡沫生成能に及ぼすNaCl濃度の影響。

けて10,000mg/Lでは60cm以上に達した。ヘモグロビンは500mg/LのNaCl濃度から泡沫が高くなる傾向を示し、10,000mg/Lでは44cmとなった。一方、ゼラチンでは、泡沫の高さは100mg/L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。

これらの結果から、カゼインをはじめとする球状タンパク質の泡沫生成能は、NaCl濃度に強く依存し、NaClが共存することによって、泡沫生成能が著しく増加することが明らかとなった。一般に塩類が高濃度な溶液において、タンパク質の高次構造は崩れて変性することが知られている¹³⁾ことから、本実験における高濃度(1,000~10,000mg/L)のNaCl溶液中では、カゼインなどの球状タンパク質はNaClによって変性し、疎水性の部位が溶媒中に露出されること、ならびに会合分子の解離によって界面活性が高まったと考えられる。

しかし、それほどNaCl濃度の高くない場合(10~100mg/L)においてもカゼインと大豆タンパクは著しい泡沫生成能の増加を示した。この程度の塩濃度でタンパク質の高次構造を大きく変化させたとは考え難い。タンパク質の中には、中性付近のpHでも塩濃度を高くすることによって変性を伴わずに解離するものがあり、これはタンパク質の解離は塩類によって分子表面の荷電効果が減衰し、分子間の静電的引力を弱めるためと考えられている⁶⁾。したがって、10~100mg/L程度のNaCl濃度におけるカゼインと大豆タンパクの泡沫の増加は、会合していた分子が変性することなしに解離し、界面活性に働く分子数が増加したためと考えられる。このことから、会合しやすいタンパク質は、低い塩濃度においても解離が生じて泡沫生成能が高まることが示唆された。これに対して、繊維タンパク質のゼラチンは、カゼインのように高次構造をとらず、変性や解離会合が生じにくいことから、塩濃度による泡沫生成に及ぼす影響は極めて小さいと考えられる。

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の影響についても検討した。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(図-3.12)。これに対して、ゼラチンはNaHCO₃濃度が1,000mg/L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。

(b) 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⁺, Mg²⁺, Ca²⁺, Sr²⁺)の違いによる泡沫生成への影響を図-3.13に示した。塩化物の濃度は、0~1,000mg/Lの範囲で変化させ、カゼインの濃度は5.0mg/Lの一定とした。塩濃度は、モル濃度(mmol/L)の単位で表した。5種類のいずれの塩化物においても、0~1mmol/L(電気電導度 100 μS/cm)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

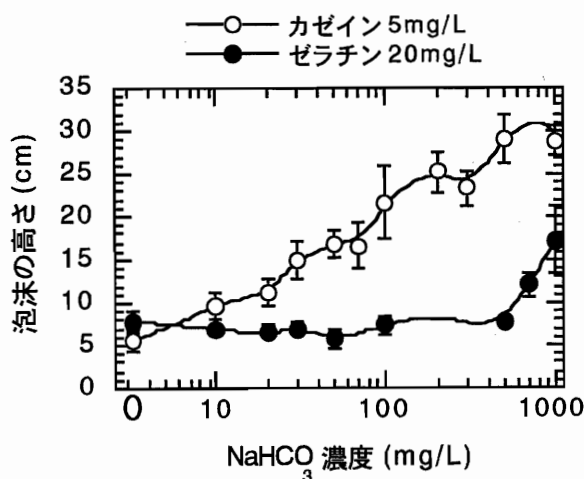


図-3.12 カゼインおよびゼラチンの泡沫生成能に及ぼすNaHCO₃濃度の影響。

みの場合と比較すると、 Na^+ 、 K^+ 、 Mg^{2+} 、 Ca^{2+} および Sr^{2+} の種類に関係なく、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、1mmol/L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0.3~0.4mmol/L（80~100 $\mu\text{S}/\text{cm}$ ）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、3mmol/L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。カゼインは α -、 β -、ならびに γ -カゼインの3つの成分（存在割合は60:36:4）からなり、これらの成分のうち、 α -カゼインの80%はpH 7、室温にて5mmol/Lの Ca^{2+} で沈殿することが報告されており¹³⁾、カゼイン全体でみると約48%がこの条件で沈殿することになる。このことから Ca^{2+} の場合において、カゼインの泡沫生成能が急激に低下したのは、 Ca^{2+} と結合してカゼインが沈殿し、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。

(c) 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（図-3.14）。 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。

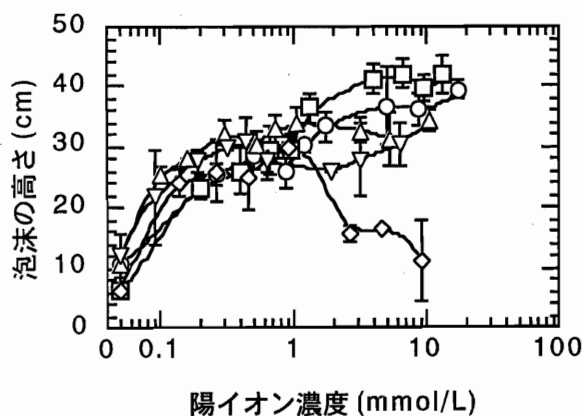


図-3.13 カゼインの泡沫生成能に及ぼす陽イオンの影響.

○ NaCl, □ KCl, ◇ CaCl_2 , △ MgCl_2 ,
▽ SrCl_2 .

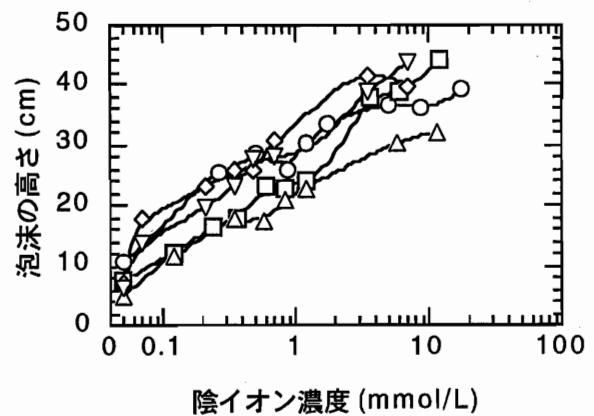


図-3.14 カゼインの泡沫生成能に及ぼす陰イオンの影響.

○ NaCl, □ NaHCO_3 , ◇ Na_2SO_4 ,
△ NaNO_3 , ▽ Na_2HPO_4 .

(d) 人工海水の添加による影響

人工海水を所定の割合（0~100%）で蒸留水と混合し、海水添加率とカゼインの泡沫の高さの関係を図-3.15に示した。カゼインの濃度は5mg/Lとした。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 $\mu\text{S}/\text{cm}$ ）では30cmに達した。1.0~10%にか

けては増加が緩やかとなり、10%（電気伝導度 6,080 $\mu\text{S}/\text{cm}$ ）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。送気している気泡径は10%から明らかに小さくなり、海水添加率の増加に伴ってさらに小さくなった。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。カゼインは、海水を僅かに添加するだけで著しく泡沫生成能が高まることがわかった。

(3) 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NaHCO₃を加えたカゼイン水溶液（カゼイン濃度、5.0mg/L；NaClあるいはNaHCO₃の塩濃度、100mg/L）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NaHCO₃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は4~5倍高くなった（図-3.16）。これは、カゼインは中性からアルカリ性までの広いpH範囲において、塩の作用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。カゼイン固有の等電点近くで凝析したことから、塩が共存した場合（100mg/L）においても、塩はカゼインを変性させることなく、会合していた分子が解離することによって、カゼイン分子として行動したと考えられる。

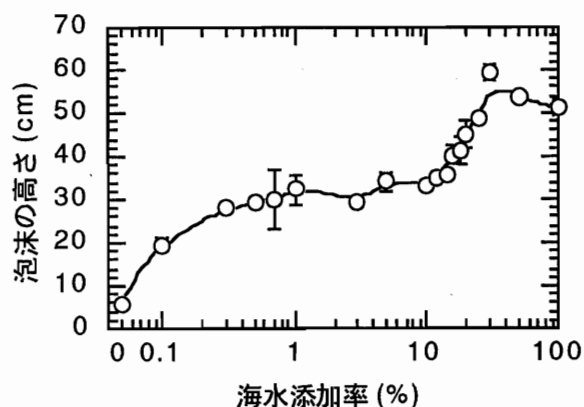


図-3.15 カゼインの泡沫生成能に及ぼす海水添加率の影響。
カゼイン濃度、5mg/L.

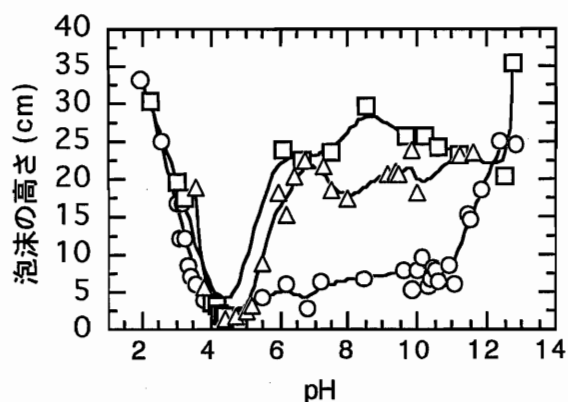


図-3.16 塩共存下におけるカゼインの泡沫生成能に及ぼすpHの影響。
○ 蒸留水, □ NaCl (100mg/L),
△ NaHCO₃ (100mg/L).

(4) 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¹⁴⁾。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¹⁵⁾。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^{6), 15), 16)}。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。

(a) 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10mg/Lの

場合、LASが1.0mg/Lでは36cm、5.0mg/Lでは59cmに達した(図-3.17-a)。蒸留水ベースにおいてカゼイン10mg/Lの生成する泡沫の高さは11cm程度(図-3.9)、LASは1.0mg/Lでは4cmであり(図-3.7)、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。生成される泡沫の様子を観察すると、LASの濃度が1.0mg/L以下で生成される泡沫は、泡沫の気泡径が0.5~1cm程度と大きく、この泡沫は主にカゼインによるものであると考えられた。そしてLASの濃度が3.0mg/L以上になると、生成される泡沫の気泡径は約1mm前後と小さくなり、これはLAS特有の泡沫であると考えられた。同様の傾向は、カゼインの濃度が20mg/L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1.0mg/Lではほとんど泡沫を生成しないにも関わらず、20mg/Lのカゼインと共存することによって泡沫の高さは62cmに達し、LAS無添加の場合よりも約2倍の泡沫を生成した。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(0.2~1.0mg/L)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示された。これはLASの疎水性基がカゼイン分子の疎水性部位に結合して、界面活性の高い分子構造に変化したのではないかと考えられた。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。

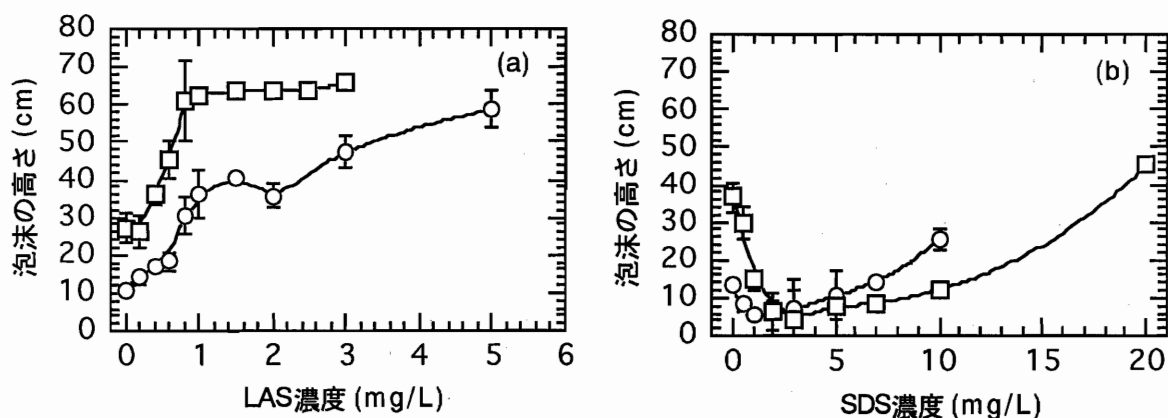


図-3.17 カゼインの泡沫生成能に及ぼす陰イオン界面活性剤の影響。
(a), LAS; (b), SDS. ○カゼイン10mg/L, □カゼイン20mg/L.

(b) SDS

カゼイン濃度10mg/Lにおいて、SDSの濃度が0.5~2.0mg/Lの間では、その増加に伴って泡沫の高さが急激に低下し、5.0mg/L以上になると再び増加する傾向を示した(図-3.17-b)。再び生成された泡沫の気泡径は1mm程度と小さく、SDSによるものと考えられた。カゼインが20mg/Lの場合においても、SDSの濃度が0.5~3.0mg/L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5.0~10mg/Lでは泡沫の高さは再び僅かずつ増加し、20mg/L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はカゼインの界面活性を失活させ、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。SDSはタンパク質と強固に結合し、タンパク質を変性、解離、あるいは沈殿させることから⁶⁾、タンパク質の強力な可溶化剤(または解裂剤)として用いられている^{15), 16)}。SDSの疎水基がカゼイン分子の疎水性部位

に強く結合してポリペプチド鎖の高次構造を完全に崩壊させ、さらに露出した部位にSDSが結合することによってカゼイン分子は見かけ上、親水性の部位しか露出しない状態になり、界面活性が失活したと考えられる。このことからSDSはLASと比較して、カゼイン分子への結合力が強く、高次構造を崩壊させる程度が著しく大きいと推定できる。

(5) 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

(a) pHの影響

種々のpHにおけるカゼイン溶液 (20mg/L) の吸収スペクトルを図-3.18-aに示した。pH2.03～8.02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、240～265nm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、270～300nmの吸収スペクトルは一致していた。一方、強アルカリ性のpH12.01のスペクトルは、極大値は290nm、極小値は270nm付近に現れ、pH2.0～9.55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。一般に、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生じないと考えられる¹⁰⁾ことから、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。

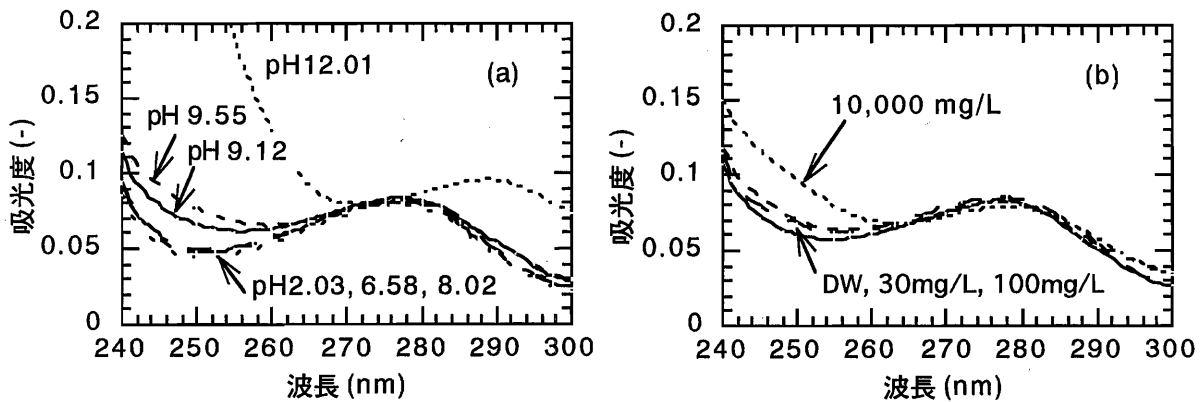


図-3.18 カゼイン溶液の吸収スペクトルに及ぼすpHとNaClの影響。
(a), pH; (b), NaCl; カゼイン濃度, 20mg/L.

(b) NaClの影響

NaCl濃度の異なるカゼイン溶液 (20mg/L) の吸収スペクトルを図-3.18-bに示した。なお、このときのNaCl無添加, 30, 100, および10,000mg/L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100mg/L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、0～100mg/L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、10～100mg/L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、界面活性に働く分子数が増加したためと考えられる。一方、NaClの濃度が10,000mg/Lの場合には、240~260nmの吸光度が増加し、0~100mg/Lのスペクトルと明らかに異なる形を示した。このことから、10,000mg/L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は著しく増加（無添加のときの約10倍）したと考えられる。

3.2.3 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変化および共存物質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。

これらの結果から、タンパク質にはpHおよび共存物質に対して、それぞれに固有の性質があり、この性質を利用することによって効率よく泡沫を生成させることが可能である。

3.3 魚類体表面粘質物の泡沫生成能¹⁷⁾

魚類の飼育水浄化プロセスとして、泡沫分離法を効果的に利用するためには、それに寄与していると考えられる魚類体表面粘質物（以下、粘質物と称する）の泡沫生成能を把握し、その機能を効率よく発揮させることが必要である。しかし、実際の魚類の飼育現場において、これらの機能を定量的に評価することは困難である。

そこで、粘質物の泡沫生成能に関する実験的検討を行い、飼育水浄化に有効な泡沫分離法に関する基礎的知見を得ることを目的とした。対象とした魚種は、わが国の養殖魚種として重要である海産養殖魚のヒラメと淡水養殖魚のウナギとし、それぞれの魚体から粘質物を抽出し、泡沫生成能に対するpHおよび塩濃度の関係を調べた。

3.3.1 実験方法

(1) 粘質物の抽出および試薬の調整

活ヒラメ500g（250gを2尾）を-20℃で凍結してから再び解凍し、エタノール（1級、99.5%、和

光純薬) 1Lに浸漬させ、5分間放置した¹⁸⁾。ゲル状になった粘質物を体表面から丁寧に薬さじで剥ぎ取り、GF/Cフィルターで吸引ろ過してこのゲルを回収した。さらにゲル状粘質物をエタノールで洗浄後、減圧乾燥させ、乳鉢を用いて粉末にした。同様にして、活ウナギ650g (約200gを3尾) の粘質物粉末も得た。また、泡沫生成能について、これらの粘質物と比較するため、界面活性物質の標準物質として、タンパク質である乳製カゼインと陰イオン界面活性剤のLASを用いた。2種類の粘質物粉末とカゼインの標準原液 (1,000mg/L) は、0.01Nの水酸化ナトリウム(NaOH)水溶液に溶解して作成し、LASの標準原液 (1,000mg/L) は蒸留水に溶解した。

(2) 検討項目

(a) 粘質物濃度

ヒラメとウナギの粘質物の濃度は0~50mg/L、カゼインおよびLASは、0~10mg/Lの範囲で変化させ、それぞれの濃度における泡沫層の高さを測定した。なお、ウナギ粘質物、ヒラメ粘質物、およびカゼインは溶媒として中性リン酸緩衝液 (リン酸一カリウム7.5mM, リン酸二ナトリウム7.5mM) を用いてpHを中性域の6.9に固定した。LASについては蒸留水を溶媒とし、その他の物質と比較することにした。

(b) pH

蒸留水にヒラメまたはウナギ粘質物を所定濃度になるよう添加し、塩酸 (0.1N, 1N) または水酸化ナトリウム水溶液 (0.1N, 1N) でpHを変化させ、それぞれのpHにおける溶液の泡沫層の高さを測定した。同様にして、粘質物溶液の溶媒として、水道水および人工海水添加水を用いた場合についても、pHの変化が泡沫生成に及ぼす影響を調べた。

(c) 塩濃度

塩化ナトリウム (NaCl) と人工海水⁹⁾を用いて、粘質物溶液の塩濃度の違いによる泡沫生成能について調べた。NaClの場合は、蒸留水にNaClを添加して濃度を0~10,000mg/Lの範囲で変化させ、粘質物を所定濃度になるよう添加し、それぞれのNaCl濃度における泡沫層の高さを測定した。海水の場合は、蒸留水と人工海水を所定の割合 (0~100%) で混合し、粘質物を所定濃度になるよう添加し、海水添加率の異なる水のそれぞれの泡沫層の高さを測定した。

(3) 泡沫生成能の測定方法

3.1.3 (p. 23)に従って測定した。

3.3.2 結果と考察

(1) ウナギおよびヒラメの粘質物の泡沫生成能の比較

ウナギ粘質物、ヒラメ粘質物、カゼイン、およびLASについて、濃度と泡沫層の高さの関係を図-3.19に示した。いずれの物質においても濃度の増加に伴って泡沫層は高くなる傾向を示した。カゼインやLASと比較すると、ヒラメとウナギの粘質物におけ

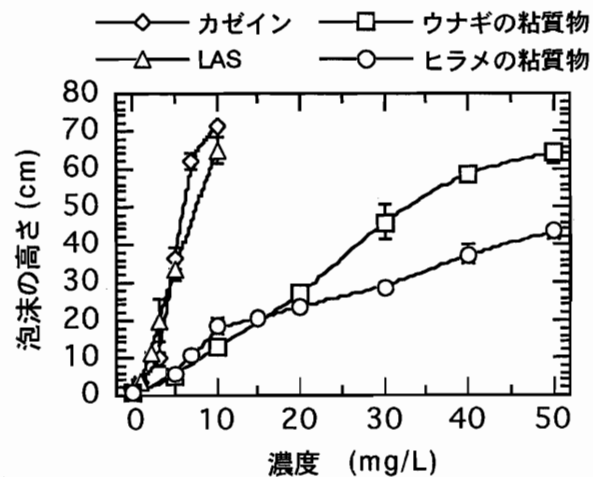


図-3.19 魚類体表面粘質物、カゼイン、およびLASの濃度と泡沫の高さの関係。(n=3, 平均±SD)

る泡沫生成能は低いものの、50mg/Lでは、それぞれ44cmと60cmに達した。また、粘質物の泡沫は、カゼインおよびLASよりも消泡し難い性状であった。30cmの泡沫層を形成させるための必要濃度を見積もると、低い方から順（泡沫生成能の高い順）にLAS、カゼイン、ウナギ粘質物、およびヒラメ粘質物は、それぞれ4.4、4.4、21、および31mg/Lであった。

(2) pHと塩濃度が泡沫生成に及ぼす影響

(a) pHの影響

蒸留水を溶媒とした場合のヒラメとウナギの粘質物のpHと泡沫生成能との関係を図-3.20に示した。2種類の粘質物の濃度は、いずれも20mg/Lで一定とした。

ヒラメの粘質物の泡沫生成能は、蒸留水を溶媒とした場合、pH1~10の広い範囲にわたってほぼ一定であり、pH11~12の強アルカリ性では高くなった。一方、ウナギ粘質物の泡沫生成能についてみると、pH2.2~3.5と7.4~9.6の範囲では、泡沫層の高さは13~20cm程度を示し、安定泡沫を生成することがわかった。しかし、

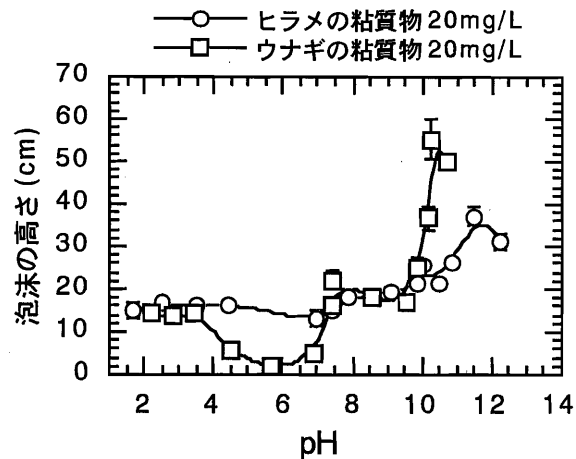


図-3.20 蒸留水中における粘質物の泡沫の高さに及ぼすpHの影響。(n=3, 平均±SD)

pH4.5~6.9では、泡沫の生成はほとんどみられず、pH4.5~5.6では僅かに白濁し、粘質物が析出する様子が観察された。このことからpH5付近にウナギ粘質物の等電点があるものと推定された。一方、高アルカリ性では、ヒラメの粘質物と同様に、極端に高い泡沫層を形成し50cmにも達した。ウナギ粘質物の泡沫生成能は、pHによって強く影響を受け、中性・アルカリ性域では安定泡沫を生成すること、ならびに弱酸性域ではほとんど泡沫を生成しないことがわかった。

高アルカリ条件によってタンパク質である粘質物分子の高次構造が崩壊し^{6), 19)}、親水性部位と疎水性部位が溶媒に露出されたために界面活性が高められたと考えられる。ヒラメ粘質物は、広いpH範囲で一定の泡沫層を形成して極端な泡沫生成能の低下が見られなかったのに対して、ウナギ粘質物ではpH4.5~5.6で泡沫が生成されなかった。このことから、ヒラメとウナギの粘質物の分子には、何らかの違いがあると推定される。

(b) 塩濃度

ヒラメとウナギの粘質物におけるNaCl濃度と泡沫層の高さの関係を図-3.21に示した。2種類の粘質物の濃度は、10mg/Lで一定とした。pHの変動は小さく、ヒラメとウナギの場合では、それぞれpH7.8~8.2とpH8.4~9.0であった。

ヒラメ粘質物の泡沫層の高さは、NaCl無添加では7cmと極めて低い。しかし、100mg/L（電気電導度：0.214mS/cm）のNaCl濃度では泡沫層の高さは、無添加の場合の約2倍の13cmに達し、1,000mg/L（1.98mS/cm）まではほぼ一定であった。そして5,000mg/Lから急激に増加して10,000mg/L（17.0mS/cm）では38cmに達した。ヒラメ粘質物溶液は、高濃度のNaClと共存することによって、泡沫生成能が高められた。また、人工海水（塩分35, pH7.8, 46.2mS/cm）を溶媒とした場合には、ヒラメ粘質物の泡沫生成能は著しく高く、泡沫層の高さは48±1cm（n=3）で

あった。

ウナギ粘質物の泡沫層の高さは、NaCl無添加では、4cm程度とヒラメの場合と同様に極めて低い（図-3.21）。しかし、50mg/LのNaCl濃度では、泡沫層の高さは無添加の場合の4倍の18cmに達し、100~5,000mg/Lではほぼ横這いとなった。これはヒラメの場合の挙動と良く一致している。10,000mg/L（16.1mS/cm）では増加して30cmに達した。ウナギ粘質物溶液もヒラメの場合と同様に、NaClと共存することによって、泡沫生成能が高まることが示された。

つぎに、ウナギ粘質物の濃度を10mg/L

とし、泡沫生成能と海水添加率の関係を検討した。海水を0.5%添加しただけで泡沫層は約5倍となり、30%（電気電導率：16.3mS/cm）の場合では、63cmに達した。添加率が100%、すなわち人工海水を溶媒とした場合、ウナギ粘質物の泡沫層の高さは 50 ± 1 cm（ $n = 3$ ）であり、ヒラメの泡沫層の高さと極めて良く一致した値を示した。ウナギ粘質物は、海水を添加することによって、著しく泡沫生成能が高まることがわかった。

塩濃度が高い環境では、タンパク質の高次構造が崩壊することが知られており^{12),19)}、塩効果によって魚類の粘質物の分子構造も変化し、泡沫生成能が増加したと考えられる。

3.3.3 まとめ

ヒラメとウナギの粘質物について、泡沫生成能に影響を及ぼす要因、および粘質物を利用した回分式泡沫分離実験によるカオリン懸濁液の濁度除去能を検討し、以下の知見を得た。

(1) ヒラメおよびウナギの粘質物は、界面活性を有し、粘質物溶液に微細気泡を供給すると水面上に安定泡沫を生成した。生成された泡沫層の高さは粘質物の濃度に依存した。

(2) いずれの粘質物の泡沫生成能もアルカリ性（pH10）では著しく高くなった。また、溶媒中の塩濃度（NaCl、海水）の増加に伴って、泡沫生成能は、著しく増加した。

3.4 タンパク質の懸濁粒子への吸着特性と疎水性評価²⁰⁾

環境水や下水・廃水に含まれる粘土粒子や有機懸濁物、あるいは植物プランクトンなどの懸濁物、およびそれらを鉄塩またはアルミニウム塩で凝集処理した際に形成されるフロックの界面はいずれも親水性であり、そのままでは気泡に吸着されない。気泡を利用して分離するためには、気泡の気液界面に吸着できるように、懸濁物あるいはフロックの固液界面を疎水化する過程が必要である。この様

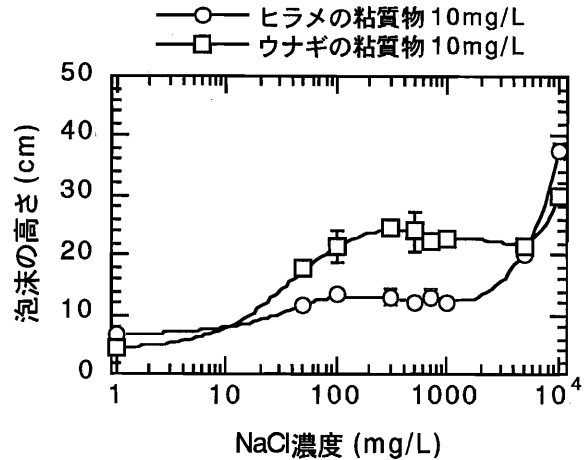


図-3.21 粘質物の泡沫の高さに及ぼすNaClの影響. ($n=3$, 平均 \pm SD)

な機能を果たす薬剤を捕集剤と称し、適切な捕集剤を選定することは、泡沫分離における処理性を向上させる上で、極めて重要となる。この捕集剤に必要とされる性質は、様々の懸濁粒子および凝集フロックへの吸着性が高く、かつ、疎水性も高いことである。硬度や塩分の高い溶液中においても、これらの特性が低下しない物質が望ましい。現在に至るまで、タンパク質の懸濁粒子への吸着特性に関する研究は見あたらない。また、最近、生体内に存在する界面活性物質（胆汁酸塩）の疎水性に関して、単純な疎水性表面を有するグラファイトの吸着挙動から評価する方法が報告されている²¹⁾が、タンパク質の疎水性評価に関する知見は極めて少ない。

そこで、カゼインをはじめとする界面活性を有する数種類のタンパク質について、無機粘土粒子のカオリンおよび金属酸化物の酸化鉄に対する吸着特性を検討した。また、タンパク質の疎水性については、グラファイトへの吸着特性から評価することにした。

3.4.1 実験方法

(1) 材料

(a) タンパク質

カゼイン（乳製，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10,000mg/L）は，それぞれの試薬を0.01N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）については，50～60℃程度の温蒸留水で溶解させて1,000mg/Lの標準溶液を作成した。ウナギ粘質物については，エタノールでゲル化させる方法にて回収し，乾燥させた粘質物は乳鉢を用いて粉末にした（3.3.1参照）。この粘質物粉末を0.01Nの水酸化ナトリウム水溶液に溶解し，ナイロンメッシュ（60 μm）でろ過して不溶性のものを除いた。粘質物標準液の標定は，この溶液50mLを110℃で蒸発乾固させ，溶質重量から求めた。

(b) 懸濁粒子と懸濁液の作成

カオリン（和光純薬製，化学用），金属酸化物として酸化鉄（ Fe_2O_3 ，和光純薬製，化学用），およびグラファイト粉末（ナカライテスク製）を用いた。懸濁液は，リン酸一カリウム（7.5mM）；リン酸二ナトリウム（7.5mM）に，懸濁粒子を分散させて作成し，pHは6.9～7.0に固定した。

(2) 吸着実験

所定量の粒子を加えた懸濁液100mL（20℃）を300mLの三角フラスコに加え，タンパク質標準液を添加してからパラフィルムで密封し，20℃で6時間回転振とう（120rpm）した。振とう後，ガラス繊維フィルター（Whatman製，GF/F，孔径0.7 μm）で吸引ろ過して懸濁粒子と溶液を分離し，ろ液中のタンパク質濃度を測定した。タンパク質濃度は，全有機炭素計（島津製作所製，TC-5000）によって全有機炭（TOC）を測定し，既知タンパク質濃度のTOCから求めた。なお，3時間と6時間の振とう時間，すなわち反応時間における溶液のタンパク質濃度の変化がなかったことから，振とう6時間は，吸着平衡に達するに十分な時間と判断した。タンパク質溶液のみ（懸濁粒子無し）の場合についても平行して実験を行い，振とう6時間後のタンパク質溶液のみのろ液中のタンパク質濃度と，各実験区のタンパク質濃度の変化量および懸濁粒子量から吸着量を求めた。

3.4.2 結果と考察

(1) タンパク質の溶解成分の安定性

蒸留水ならびにリン酸緩衝液を溶媒として所定濃度のカゼイン、カゼイン、アルブミン、ヘモグロビン、ゼラチン、およびウナギ粘質物の溶液を作成し、作成直後、6時間静置後、および6時間連続攪拌（120rpm）後にそれぞれろ過して、ろ液中のそれぞれのタンパク質濃度の変化を調べた（表-3.1）。カゼイン、カゼイン、アルブミン、ヘモグロビンおよびゼラチンについては50mg/L、粘質物は44mg/Lとなるようにそれぞれの標準原液を添加し、水温は、20℃で一定とした。

蒸留水を溶媒に用いた場合の作成直後のカゼイン、カゼイン、アルブミン、ヘモグロビン、ゼラチン、および粘質物の溶液は、添加量のほぼ90~100%が溶解成分として検出された。これに対して、リン酸緩衝液を溶媒とした場合には、溶解成分として存在した濃度は蒸留水と比較して、約10~15mg/L程度低くなった。リン酸緩衝液において、添加したタンパク質の一部は、直ちに、凝析あるいは塩析してコロイドになったと考えられる。

カゼインとゼラチンは、6時間の攪拌による影響を受けず、静置条件の場合とほぼ同じ濃度を示し、溶解成分として安定に存在できることがわかった。これに対して、アルブミンと粘質物は、リン酸緩衝液を溶媒とした場合において、また、ヘモグロビンと粘質物は、蒸留水とリン酸緩衝液のいずれの場合においても、攪拌したことによって濃度の大幅な低下がみられた。濃度の低下したアルブミンと粘質物溶液には、白色のゲル状物質が浮遊しており、攪拌によって、添加した物質の一部が変性して析出し、凝集したものと考えられた。また、攪拌後のヘモグロビン溶液には、赤褐色のゲル状物質が浮遊しており、アルブミンと同様に一部が不溶性に変化したためと考えられる。タンパク質は、気液界面に吸着されると固体状の不溶性膜を作ることがある⁹⁾とされていることから、アルブミン、ヘモグロビン、および粘質物は、このような変性を受けやすい物質であることがわかった。

表-3.1 タンパク質の溶液中における安定性

タンパク質	溶媒	添加濃度 (mg/L)	ろ液中濃度 (mg/L)			pH
			添加後	静置 (6h)	混合 (6h)	
カゼイン	蒸留水	50.0	47.0	45.0	44.4	7.19
	リン酸緩衝溶液	50.0	40.9	36.9	35.7	6.98
アルブミン	蒸留水	50.0	50.4	49.3	46.3	8.81
	リン酸緩衝溶液	50.0	40.0	40.3	31.9	6.98
ヘモグロビン	蒸留水	50.0	45.1	41.7	32.5	8.63
	リン酸緩衝溶液	50.0	33.1	32.6	22.5	6.98
ゼラチン	蒸留水	50.0	45.3	45.5	43.4	6.47
	リン酸緩衝溶液	50.0	34.9	35.1	34.1	6.97
ウナギ粘質物	蒸留水	44.0	38.3	37.9	35.1	10.1
	リン酸緩衝溶液	44.0	22.0	21.8	16.5	6.98

(2) カオリンへの吸着

カゼイン、アルブミン、ヘモグロビン、ゼラチン、およびウナギ粘質物のカオリンへの吸着等温線を図-3.22に示した。ゼラチンはカオリンへの吸着性が最も高く、次いで、カゼインが高かった。本実験系で得られた値で最も高い吸着量（以降、最大吸着量とする）は、ゼラチンとカゼインで、それぞれ39.2mg/gと25.1mg/gであった。一方、アルブミンと粘質物は、カオリンへの吸着性が低く、10mg/g以下であった。

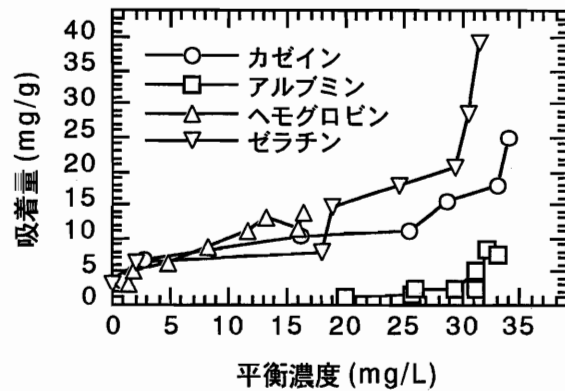


図-3.22 タンパク質のカオリンへの吸着等温線.

カオリンへの吸着性は高い順に、ゼラチン、カゼイン、ヘモグロビン、粘質物、アルブミンであった。いずれの場合も、Freundlich型あるいはLangmuir型の吸着等温線に適合しなかった。界面活性剤の粘土粒子に対する吸着性は、これらの吸着等温線に良く適合することが報告されており^{22), 23)}、タンパク質と界面活性剤の粘土粒子への吸着性は異なると考えられる。タンパク質分子は会合しやすい性質があり、懸濁粒子界面に吸着したタンパク質分子に、さらにタンパク質分子が吸着したのではないかと考えることができる。最近の研究では、油滴粒子に吸着した球状卵黄タンパク質にさらに数個のタンパク質分子が吸着している様子が電子顕微鏡写真で確認されており²⁴⁾、タンパク質の懸濁粒子界面への吸着は、界面活性剤のように単純な界面吸着ではないことが示唆された。

(3) Fe₂O₃への吸着

カゼイン、アルブミン、ヘモグロビン、ゼラチン、およびウナギ粘質物のFe₂O₃への吸着等温線を図-3.23に示した。カオリンへの吸着等温線と同様に、特異な曲線を示した。Fe₂O₃に対する吸着性は、カゼインが最も高く、最大吸着量は61.9mg/gとなり、その他のタンパク質と比較して極端に高かった。一方、アルブミンと粘質物は、Fe₂O₃に対する吸着性が著しく低く、5mg/g以下となり、カゼインと比較してワンオーダー低い吸着量であった。Fe₂O₃への吸着特性は高い順に、カゼイン、ゼラチン、ヘモグロビン、アルブミン、粘質物となった。

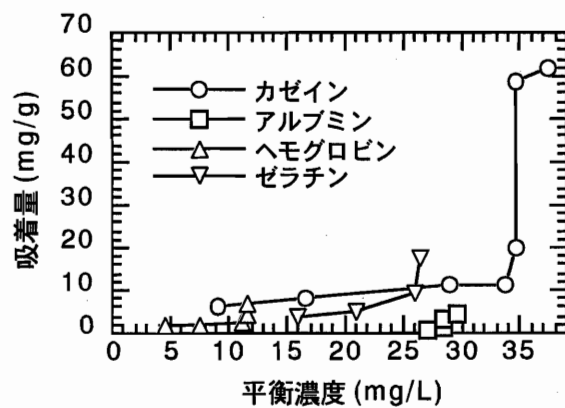


図-3.23 タンパク質のFe₂O₃への吸着等温線.

(4) 疎水性評価

カゼイン、アルブミン、ヘモグロビン、ゼラチン、およびウナギ粘質物のグラファイトへの吸着等温線を図-3.24に示した。グラファイトに対する吸着性は、ヘモグロビンが最も高く、最大吸着量は38mg/gであった。次いで、ゼラチン、カゼインの順であった。一方、アルブミンのグラファイトへの吸着性は極めて低かった。疎水性表面を有するグラファイトへの吸着量が多いほど、疎水性は高い

と評価される。したがって、ヘモグロビン
は最も疎水性が高く、ゼラチンおよびカゼ
インも高い疎水性を有していることがわか
った。他のタンパク質と比較して、アルブ
ミンの疎水性は低いことがわかった。

(5) 塩の影響

球状タンパク質は、塩と共存すること
によって、変性あるいは解離・会合を生じ
ることから、懸濁粒子への吸着性に影響を
及ぼすことが予想された。そこで、NaCl濃
度が10,000mg/Lの懸濁液（pHはリン酸
塩で6.9に固定）を作成し、その他の条件
は先の吸着実験と同一とし、カゼインにつ
いて、NaClがカゼインの吸着性に及ぼす影響を調べた（図-3.25）。

カオリンに対するカゼインの吸着性は、NaClが共存することによって高められ、吸着量は、NaCl無添加の場合の2倍以上の46mg/gに達した（図-3.25-a）。カオリンと同様に、Fe₂O₃についてもNaClによって吸着性が高まり、最大吸着量が約30%増加し、79mg/gとなった（図-3.25-b）。さらに、NaClが高濃度で共存することによって、カゼインのグラファイトへの吸着量は増加し（図-3.25-c）、疎水性は、2倍以上高まることがわかった。

(6) 吸着特性と疎水性の検討

カゼインとゼラチンは、カオリンおよびFe₂O₃のいずれの懸濁粒子に対しても高い吸着性を示した。一般に、天然水中（中性域）では、カオリンなどの粘土は負荷電、酸化鉄は正荷電の粒子である⁹⁾ことから、カゼインとゼラチンは、正・負荷電のどちらの粒子に対しても吸着できる性質を有していることがわかった。一方、アルブミンは、どちらの懸濁粒子に対しても吸着性が低かった。カオリンを初めとする粘土粒子に対する界面活性剤の吸着性は、高い順に、陽イオン界面活性剤、非イオン界面活性剤、陰イオン界面活性剤であることが報告されており²²⁾、負荷電の粘土粒子とそれぞれの界面活性剤との静電気的な吸引・反発から説明される。しかし、カゼインとアルブミンでは、等電点がそれぞれpH4.6~4.9とpH4.7~4.9と一致しているにもかかわらず懸濁粒子への吸着性が全く異なった。タンパク質の吸着等温線は特異な曲線を描き、カゼインやゼラチンのように荷電の異なる二種類の懸濁粒子のいずれに対しても高い吸着性を示した。タンパク質の懸濁粒子への吸着形態は、極めて多様である。

さらに、疎水性の高いグラファイトへの吸着性は、疎水性を評価する指標となるので、グラファイトに対して吸着性の高かったヘモグロビン、ゼラチン、およびカゼインは、疎水性の高い部位が有する分子構造であると考えられる。

懸濁粒子への吸着性が高く、しかも疎水性の高い物質ほど懸濁粒子を疎水化する能力が高くなる。したがって、タンパク質の吸着特性と疎水性から、捕集剤として適しているタンパク質を評価すると、カゼインおよびゼラチンが優れているといえる。また、塩が共存することによって、吸着性および疎水性がいずれも著しく高まるカゼインの性質は、捕集剤として非常に好都合であることがわかった。

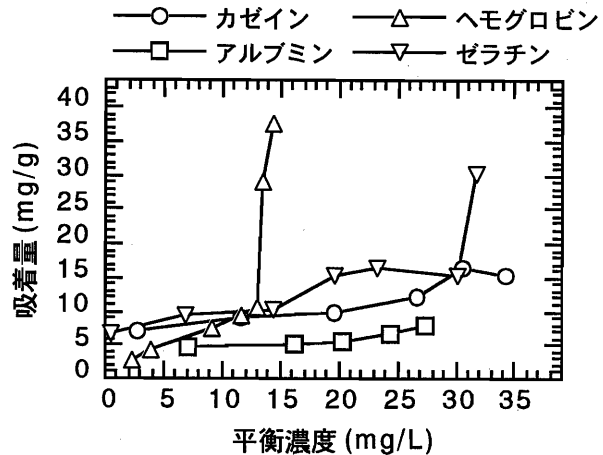


図-3.24 タンパク質のグラファイトへの吸着等温線。

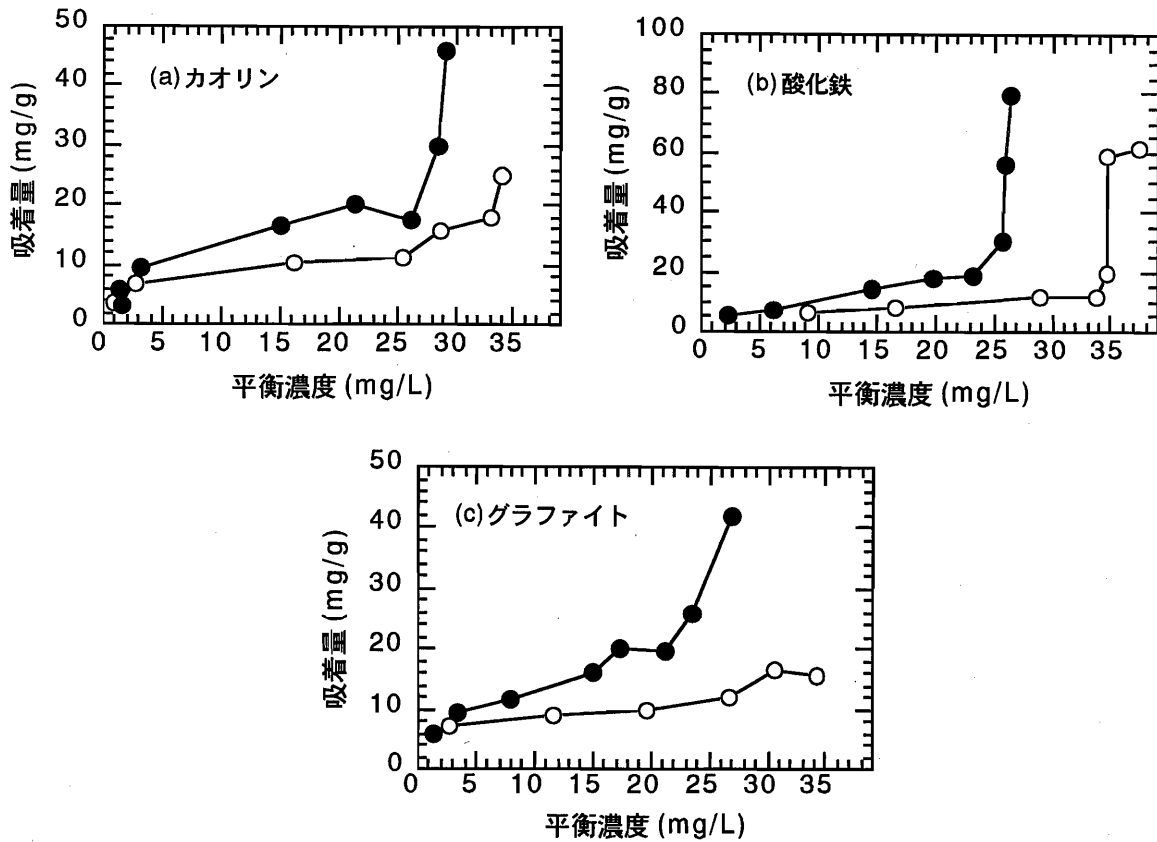


図-3.25 カゼインの吸着特性に及ぼすNaClの影響.

○, NaCl無添加; ●, NaCl 10,000mg/L添加.

3.5 小括

懸濁物除去を目的とした泡沫分離法において求められる機能は、①水面上に泡沫が生成されること、および、②懸濁物を液側から泡沫に移行・濃縮させることの二点である。したがって、タンパク質を泡沫分離法の薬剤として利用するためには、タンパク質の泡沫生成能および、捕集性（懸濁物界面を疎水化する機能）に係る性質を理解する必要がある。本章では、これらの点について、数種類の界面活性性を有するタンパク質について検討し、得られた知見を以下に示す。

- (1) 泡沫生成塔内に生成される泡沫が泡沫分裂・消失する直前の泡沫層（柱）の高さによって、タンパク質および界面活性剤の泡沫生成能を評価できる。
- (2) pHの変化は、球状タンパク質の泡沫生成能を大きく左右する重要な因子である。
- (3) 球状タンパク質の泡沫生成能は、塩濃度に強く依存し、塩が共存することによって著しく増加する。
- (4) カゼインは、最も泡沫生成能が高く、かつ、塩との共存によって著しく泡沫生成能が増加する性質を有しているタンパク質である。

- (5) タンパク質の吸着等温線は、特異な曲線を描き、タンパク質の懸濁粒子への吸着形態は、極めて多様であると推測される。
- (6) カゼインとゼラチンは、カオリンおよび酸化鉄の懸濁粒子のいずれに対しても高い吸着性を示し、かつ疎水性も高い。
- (7) カゼインは、塩と共存する場合において、吸着性および疎水性が著しく高まる。

次章では、実際に懸濁液を対象とし、タンパク質を用いた泡沫分離実験による処理性から、泡沫分離法に適するタンパク質の選定とその性質について検討する。

第3章 引用文献

- 1) 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.
- 2) 佐々木恒孝 (1956) 泡沫, 実験化学講座7・界面化学, (日本化学会編), pp. 181-215, 丸善, 東京.
- 3) Ross, J. and G. D. Miles (1941) An apparatus for comparison of properties of soaps and detergents, Oil & Soap, 18, 99-102.
- 4) 村田隆光 (1993) 起泡と消泡の試験法, 油化学, 42, 27-35.
- 5) Perri, J. M. and F. Hazel (1947) Effect of electrolytes on the foaming capacity of alpha soybean protein dispersions, Journal of Physical and Colloid Chemistry, 51, 661-666.
- 6) 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, 早石修編), pp. 639-687, 共立出版, 東京.
- 7) 鈴木祥広, 丸山俊朗 (2000) タンパク質溶液の泡沫生成に及ぼすpHと共存物質の影響, 水環境学会誌, 23, 108-115.
- 8) 中垣正幸, 福田清成 (1993) コロイド化学の基礎(日本化学会), 318 pp., 大日本図書, 東京.
- 9) APHA (1985) Standard methods for the examination of water and wastewater 16th edition, pp.8-11, APHA, Washington D.C.
- 10) 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.
- 11) 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編), pp. 33-36, 共立出版, 東京.
- 12) 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.
- 13) 曾根敏磨 (1984) カゼイン, 天然高分子 (高分子学会高分子実験学編集委員会編), pp. 90-93, 共立出版, 東京.
- 14) 日本水環境学会 (1994) 水環境と洗剤(日本水環境学会編), 149 pp., ぎょうせい, 東京.
- 15) 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, 原一郎編), pp. 475-496, 講談社, 東京.
- 16) 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.
- 17) 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.
- 18) Sumi, T., Y. Hama, D. Maruyama, M. Asakawa and H. Nakagawa (1997) Isolation and properties of a sialoglycoprotein from the skin mucus of the stingray *Dasyatis akajei*, Fisheries Science, 63,

453-458.

- 19) 伊勢村寿三 (1973) タンパク質の変性と復元 [タンパク質化学] (安藤悦郎, 今堀和友, 伊勢村寿三, 早石修編), pp. 521-586, 共立出版, 東京.
- 20) 鈴木祥広, 丸山俊朗 (2000) 凝集・泡沫分離法に適したタンパク質の懸濁粒子への吸着特性, 環境工学研究論文集, 37, 237-245.
- 21) 佐々木泰司, 杉浦剛平 (1998) 胆汁酸塩の各種固体への水中に於ける吸着挙動: 疎水性評価及び可溶化と吸着のメカニズムに関連して, 食品・食品添加物研究誌, No.177, 64-76.
- 22) 伏脇裕一, 田中克彦, 浦野紘平 (1982) 界面活性剤の粘土鉱物への吸着性, 水質汚濁研究, 5, 151-159.
- 23) 阿部幸子, 妹尾学 (1985) 陰イオン界面活性剤の粘土への吸着性, 日本化学会誌, 820-825.
- 24) 松崎成秀 (1999) 乳化食品の安定性, 食品・食品添加物研究誌, No.180, 45-54.