

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 15 日現在

機関番号：12614

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24560919

研究課題名(和文) ナノセンシング技術による固体表面への汚れの付着脱離キネティクスの解析

研究課題名(英文) Analysis of kinetics of soils adsorption onto and desorption from a solid surface by using the nano-sensing technology

研究代表者

萩原 知明 (Hagiwara, Tomoaki)

東京海洋大学・海洋科学技術研究科・教授

研究者番号：20293095

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：ナノセンシング技術のアドミッタンス解析法水晶振動子マイクロバランスを用いることにより、タンパク質ならびにタンパク質を主成分とする汚れの付着および脱離挙動を精度よく把握することに成功した。その結果、吸着ならびに脱離過程の速度論(キネティクス)は、標準的な吸着理論であるラングミュアの理論と明確に異なることを明らかにした。さらに、付着操作時に付着量が増加した後に減少する、洗剤添加にもかかわらず付着量が増大する等の特異的な付着脱離挙動も見出した。その他に、加熱温度が付着量におよぼす影響についても明らかにした。以上の知見は、洗浄水量削減技術の開発の一助になると考えられた。

研究成果の概要(英文)：By using the admittance-based QCM (QCM-A), adsorption and desorption behavior of protein and proteinous soils on a solid surface were successfully monitored. The kinetics of their adsorption and desorption were clearly different from that of the Langmuir's theory, which is known as a standard adsorption and desorption theory. Especially, quite interesting behaviors, such as increasing adsorption amount followed by decreasing adsorption amount during adsorption procedure, and increasing adsorption amount by addition of detergent were observed. In addition, effect of heating upon adsorption amount of soils was examined. These finding will be useful for reducing amount of water during cleaning.

研究分野：食品工学

キーワード：洗浄 吸着 QCM-A 速度論 アドミッタンス解析法 タンパク質

## 1. 研究開始当初の背景

食品から半導体に至るまであらゆる工業製品の製造プロセスにおいて、製品への異物混入を防止し、装置の性能を維持するため、汚れを除去する装置洗浄は不可欠な操作である。特に、食品・医薬品製造においては、装置に付着残した食品成分や生体由来物質が、微生物の格好の生育の場となり、製品の品質低下および製品を摂取する人の健康被害を引き起こす事故が後を絶たず、このような事故防止の要として、洗浄の役割は極めて大きい。近年の製造規模の拡大、流通の広域化に伴い、洗浄不足による事故は大規模化・広域化する傾向にあり、求められる洗浄レベルは上昇している。一方で、洗浄は、多量の水を必要とする。地球環境保全の観点から、洗浄水量の削減は待たなしの状況にある。すなわち、現在、製造の場において洗浄技術は一層の高度・精密化と効率化の両立を迫られている。こうした状況に的確に対処するためには、洗浄に関わる諸現象を科学的に理解し、合理的な指針に基づき、洗浄操作の効率化や付着制御技術の創出を実現することが不可欠であるといえる。

## 2. 研究の目的

本研究では、洗浄水量削減技術の開発の一助となることをめざして、ナノセンシング技術である水晶振動子マイクロバランス法(QCM)等を駆使して、食品・医薬製造装置の主要な汚れ成分の固体表面に対する付着および脱離の速度論(キネティクス)に係る情報を得ることを目的とした。

## 3. 研究の方法

### (1)実験試料

付着させる汚れとして、標準モデルタンパク質であるウシ血清アルブミン(BSA)の溶液、サケ魚肉の水抽出液を用いた。BSAは、水晶振動子マイクロバランス法(QCM)を用いて付着および脱離挙動を測定する際の操作手順を確立するための試料としてもちいた。サケ魚肉の水抽出液は実際の食品汚れの例として用いた。その他、温度が付着量におよぼす影響を検討するための試料として、アマエビの水抽出液も用いた。

汚れを付着させる固体表面にはステンレス鋼を用いた。ステンレス鋼は、食品ならびに医薬品の製造装置の素材として一般に用いられている。

脱離操作時に加える洗剤としては、市販のタンパク質分解酵素入り洗浄剤(商品名ノニプロソフト)、および大規模な食品製造装置の洗浄剤として広く一般に用いられている水酸化ナトリウム溶液を用いた。

### (2)アドミッタンス解析法に基づく水晶振動子マイクロバランス法による汚れの付着および脱離挙動の解析

実験装置にはAFFINIX QN Pro (株)イニシア

ム; 現株アルバック)を用いた。測定セルには水晶振動子表面をステンレス鋼でコーティングした特注品を用いた。はじめに測定セル内に溶媒(試料がBSAのときは50mM HEPES緩衝液(pH7.0)、試料がサケ魚肉の水抽出液のときには蒸留水)を加え、そのまま装置が安定するまで約3時間待機した。その後、試料溶液(BSA溶液又はサケ魚肉水抽出液)をセル内に加え、ステンレス鋼表面への汚れの付着量測定を1時間行った。その後、洗浄剤を加え、ステンレス鋼表面からの汚れの脱離挙動をさらに1時間にわたって測定した。なお、測定は25で行った。

### (2)高感度反射法フーリエ変換赤外分光FT-IRによるサケ魚肉由来の汚れの主成分の推定

(2)と同等の操作を行ってサケ魚肉由来の汚れを付着させたステンレス鋼板を用意した。表面の水分を乾燥させた後、高感度反射法FT-IR(Nicolet FT-IR 6700; サーマサイエンティフィック)を用いて、表面に付着した汚れの赤外吸光スペクトルを測定した。

### (3)温度が付着量におよぼす影響の検討

所定のタンパク質濃度のアマエビの水抽出液とステンレス鋼の粉末をガラスバイアル瓶に入れ、30~95の温度において、付着操作を行った。その後、水抽出液中のタンパク質濃度を測定した。そして、付着操作前後のタンパク質濃度の差から、ステンレス鋼に対するタンパク質性汚れの付着量を求めた。

合わせて、アマエビの水抽出液中のタンパク質の加熱凝集挙動におよぼす温度の影響を調べるため、加熱処理を行ったアマエビ水抽出液の赤外吸光スペクトルをATR法で測定した。

## 4. 研究成果

### (1)アドミッタンス解析法に基づく水晶振動子マイクロバランス法による汚れの付着および脱離挙動の解析

ステンレス鋼でコーティングした特注品の水晶振動子を組み込んだ測定セルを用い、前述の手順を行うことにより、ステンレス鋼表面に対するBSAの付着量の時間変化ならびに洗剤添加時のBSAの脱離挙動を精度よく測定することができ、付着脱離挙動をQCM-Aで測定するための方法を確立できた。

確立した方法を用いて、より実際の食品に近いモデル食品として、サケ魚肉の水抽出液をステンレス鋼に接触させた時のステンレス鋼表面への汚れの付着挙動ならびに、洗剤添加時の汚れの脱離挙動を検討した。前述の確立した方法を用いることで、標準モデルタンパク質のBSAと同様に、付着操作時および洗浄操作時の付着量変化を測定することができた(図1)。

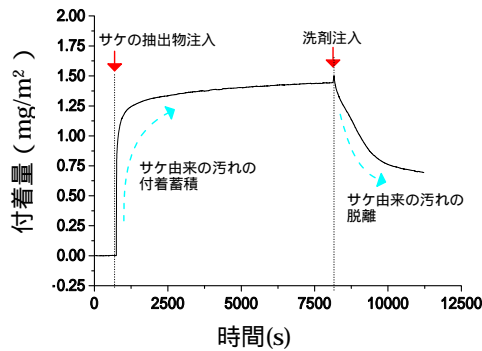


図 1 付着脱離挙動の測定例.

付着操作から2時間後の付着量から作成したサケ水抽出由来の汚れ物質の吸着等温線は、抽出液の濃度が高くなるほど、付着量が増加し、やがて一定の値に収束する傾向が見られ、標準的な吸着理論の一つであるLangmuirの吸着理論から導かれる吸着等温線の式で良好に近似された(図2)。

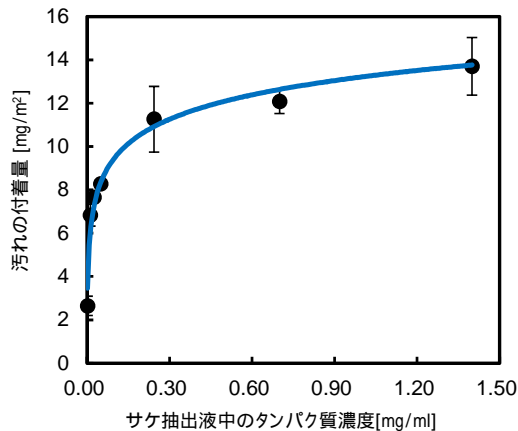


図 2 サケ抽出物由来の汚れの吸着等温線. 青線はLangmuirの吸着等温線の式.

しかしながら、付着量の時間変化は、いずれの濃度の抽出液でも、Langmuirの吸着理論から導かれる速度論式で、測定時間の全域を良好に近似することできなかった。特に低濃度の抽出液では、時間とともに、付着量が増加しやがて極大値をとった後、減少ながら一定の値に漸近的に近づくといった特異的な付着量変化が観測された(図3)。この特異的な付着量変化がおこる詳細な機構は現在のところ不明である。今後、実験データを詳細に解析し、付着量のみならず、付着汚れの粘弾性の変化等も調べることが必要である。

洗剤(水酸化ナトリウム水溶液)添加時の付着量の変化も、Langmuirの吸着理論から導かれる速度論式で、測定時間の全域を良好に近似することできなかった。特に低濃度の抽出液では、洗剤添加にもかかわらず、付着量の増加が観測された(図4下図)。この詳細な機構も現時点では明らかではないが、添加した水酸化ナトリウムの影響により、pHが上昇するに伴い、タンパク質を主成分とする汚れ

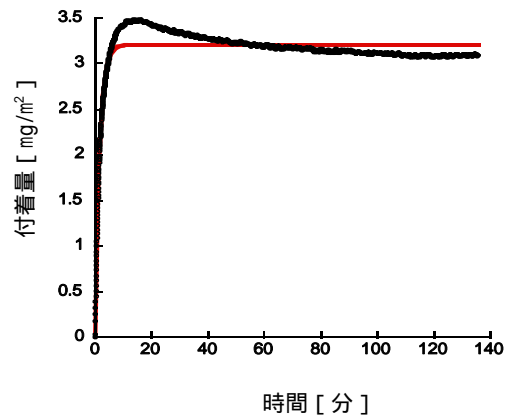


図 3 タンパク質濃度 0.0025 mg/mL に調製したサケ魚水抽出液由来の汚れの付着量の時間変化. 赤線はLangmuirの理論式の近似結果.

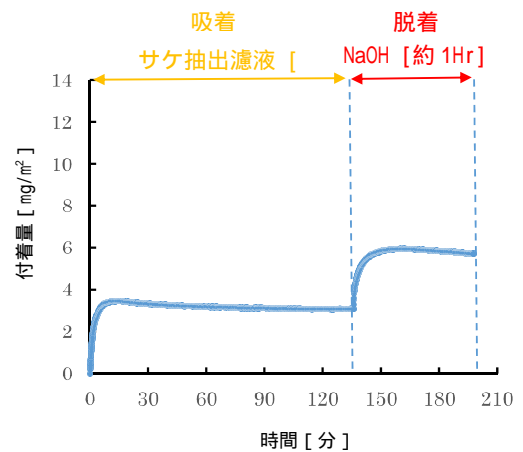
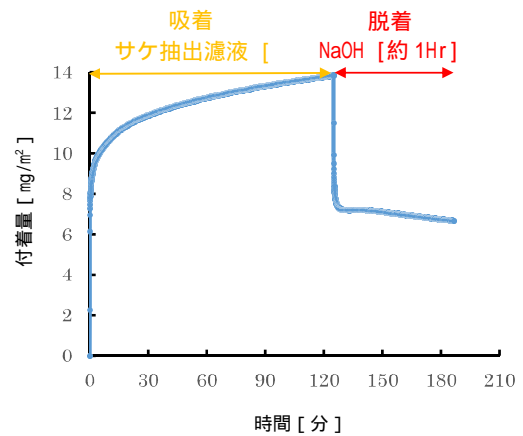


図 4 サケ魚肉由水抽出液由来汚れの付着脱離挙動. タンパク質濃度; 上図 1.4mg/mL, 下図 0.0025mg/mL.

が静電的相互作用の増加により膨潤して水分を取り込んだ結果、付着量が見かけ上増加した可能性が考えられる。より高濃度の抽出液においても同様な汚れの膨潤も起こるが、脱離した汚れが多いため、付着量の減少が観察されたものと考えられた。

### (2) 高感度反射法フーリエ変換赤外分光 FT-IR によるサケ魚肉由来の汚れの主成分の推定

ステンレス鋼表面に付着した汚れの赤外吸光スペクトルには、タンパク質特有のピーク(Amide I, Amide II, Amide III)が強く観測された(図5)。したがって、サケ魚肉由来の汚れの主成分はタンパク質であることが強く示唆された。

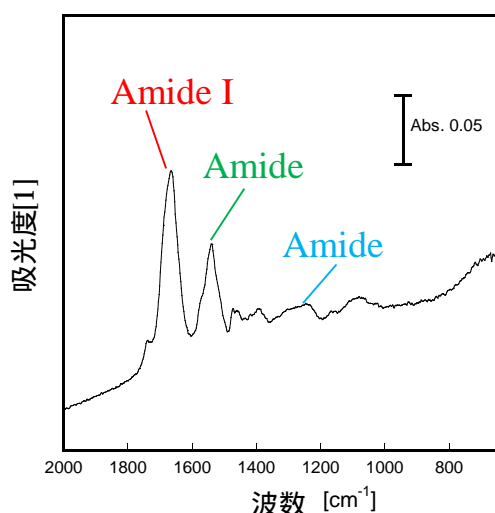


図5 ステンレス鋼表面に付着したサケ魚肉水抽出液由来汚れの赤外吸光スペクトル。

### (3) 温度が付着量におよぼす影響の検討

ステンレス鋼へのタンパク質付着量は、30~60℃では付着量の変化は明確でなかった。しかしながら、60℃を超えると、付着量は急激に増加する傾向が見られ(図6)、付着速度が大きくなったことが推察された。加熱処理を行ったアマエビ水抽出液の赤外吸光スペクトルは、加熱処理温度60℃を超えると、タンパク質間シート結合由来のピークが観測されるようになった。タンパク質間シート結合は、種々のタンパク質において加熱変性による凝集体形成時にしばしば観測されることから、60℃を超えると、アマエビ由来タンパク質の加熱変性による凝集体形成反応が顕著になっていることが推定された。そして、60℃を超えるとステンレス鋼へのタンパク質の付着量が増加した機構として、ステンレス鋼表面に直接付着しているタンパク質に対して、加熱変性した溶液中のタンパク質が凝集していったことが考えられた。

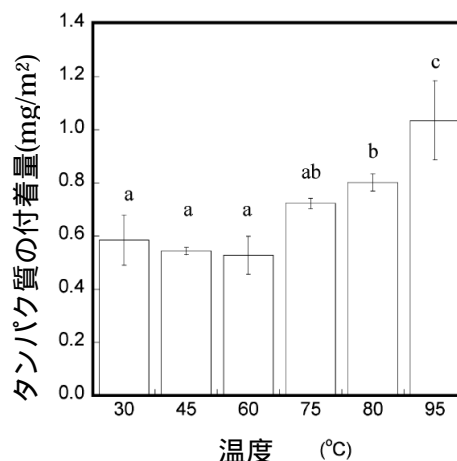


図6 種々の温度で測定されたアマエビ由来水抽出液からのステンレス鋼へのタンパク質付着量.同一のアルファベット記号を有する測定値間では有意な差がないこと ( $p < 0.05$ )を意味している。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 1 件)

Tomoaki Hagiwara, Madoka Suzuki, Yuki Hasegawa, Saki Isago, Hisahiko Watanabe, and Takaharu Sakiyama, Temperature effect on pink shrimp (*Pandalus eous*) protein adsorption onto a stainless steel surface, 査読有, Food Science and Technology Research, 2015, Vol.21, pp.341-345, 10. <http://dx.doi.org/10.3136/fstr.21.341>

〔学会発表〕(計 1 件)

T. Hagiwara, P. Nattawut, T. Sakiyama, Monitoring deposit formation and its detaching process on a stainless steel surface by the quartz crystal microbalance based on admittance method (QCMA). 12<sup>th</sup> International Congress on Engineering and Food (ICEF12), June 16, 2015, Quebec City, Canada.

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

取得状況 (計 0 件)

〔その他〕

なし

## 6. 研究組織

(1)研究代表者

萩原 知明 (HAGIWARA, Tomoaki)

東京海洋大学・海洋科学技術研究科・教授



研究者番号：20293095

(2)研究分担者  
なし

(3)連携研究者  
なし