

## 酸化チタン光触媒による養殖魚水環境の改善効果

田邊 玲果<sup>1</sup> 栗林 清<sup>2</sup>✉

<sup>1</sup>帝京科学大学大学院理工学研究科 <sup>2</sup>帝京科学大学生命環境学部環境科学科

(平成19年12月12日受理)

### Improvement of the water environment of a cultured fish with TiO<sub>2</sub> photocatalyst

Reika TANABE Kiyoshi KURIBAYASHI

TiO<sub>2</sub> (anatase) was coated on porous silica gel balls via sol-gel process and subsequent calcination at 550°C and 600°C for 3h. Photocatalytic Properties of TiO<sub>2</sub> coated silica gel was examined. Methylene blue was completely decomposed by TiO<sub>2</sub> coated silica gel under irradiation of black light lamp for 24h. The number of coliform bacterium in aquaculture water which is circulated in antibacterial photocatalysis system with TiO<sub>2</sub> coated silica gel and black light lamp was measured. TiO<sub>2</sub> coated silica gel showed remarkable antibacterial action.

Key words: 光触媒、TiO<sub>2</sub>、抗菌作用、水環境、養殖

#### 1. 緒言

現在、多くの魚の養殖は海で行なわれているが、赤潮、病気の発生や、海底に堆積したエサによる汚泥の影響で内湾の汚染が進んでいる。そこで注目されているのが「陸上循環式養殖」である。閉鎖状態のため病気が発生する確率が少なく、薬を使用することなく養殖できる可能性が注目されている。しかし、循環式のため病気の発生を確実に防ぐことが必須な条件となる<sup>1)</sup>。

本研究では、光触媒である酸化チタンと紫外線とを併用することで殺菌能力をあげられるのではないかと考えた。光触媒は、分解対象物質との接触面積を大きく保つために超微粒子状態が望ましいとされている<sup>2)</sup>。しかし、超微粒子の水中での使用は、処理後の回収が困難であると同時に、濁度の上昇により、有効利用できる光量が減少するという問題が生じてしまう<sup>3)</sup>。そこで、分解効率を上げるための大きな比表面積をもち、回収が容易にできる酸化チタン光触媒を作製することが求められてきた。

本研究ではアナターゼ型酸化チタンの回収が容易になるように、シリカゲルにコーティングする技術を開発し、光触媒特性の評価を行なった。さらに

作製した試料を用いた光触媒装置を設置し、紫外線照射下で、魚を飼育している水槽の水を循環させた。このような条件下に保持した水槽水中の大腸菌群数を測定し、殺菌能力を調べると同時に水槽水の水質指標を測定したので報告する。

#### 2. 実験方法

##### 2-1. 酸化チタンコーティングシリカゲルの作製と光触媒特性評価

窒素を充満させたグローブボックス内で、チタニウムテトライソプロポキシド(TTiP) 60ml(0.20mol)、溶媒として2-メトキシエタノール 30ml、TTiPの加水分解を制御する目的で2-アミノエタノール 20mlを測り取り混合し、窒素雰囲気下90°Cで180分還流を行った。この時、コーティング膜と担持物との接着強度を向上させるため、添加剤としてポリビニルブチラール(PVB) [関東化学(株)製・分子量:26000-35000] 0.5gを2-メトキシエタノールに溶解、還流し、TTiPアルコキシド溶液を得た。

次に、減圧下でシリカゲル[富士シリシア(株)製・CARiACT Q-50]を約10分間TTiPアルコキシド

溶液中に浸した。その後、TTiP アルコキシド溶液中に浸したシリカゲルをステンレス製メッシュ上に3分間放置し、余分に付着したTTiP アルコキシド溶液を取り除いた。以上のように処理したシリカゲルを400℃で2時間加熱し、有機物を消失させた後、550℃及び600℃で3時間焼成し、TiO<sub>2</sub>コーティング膜を形成した。作成した試料の光触媒特性を評価するため、濃度  $1.0 \times 10^{-2} \text{g/dm}^3$  メチレンブルー溶液50cm<sup>3</sup>にTiO<sub>2</sub>コーティングシリカゲルを5cm<sup>3</sup>入れ、10Wブラックライトランプ[NECライティング(株)]照射下に、30分から72時間放置した後、メチレンブルー溶液を分光光度計で測定し、あらかじめ求めた検量線から溶液中のメチレンブルー濃度を求めた。また、メチレンブルー分解試験後のTiO<sub>2</sub>コーティングシリカゲルの写真を撮り、色調の変化を目視で比較した。一方、坩堝の底に残ったTiO<sub>2</sub>粉体を用い、粉末X線回折(XRD)により生成相の同定を、走査型電子顕微鏡(SEM)により、TiO<sub>2</sub>コーティングシリカゲルの膜表面及び断面の微細構造を観察した。

## 2-2. 養魚水槽への酸化チタンコーティングシリカゲル適用による抗菌作用評価

本実験では、体長約5cmのオイカワ(Zacco Platypus)10匹を飼育した水槽を2槽用意した。養魚への給餌は両水槽とも0.1g/dayとした。一方の水槽にTiO<sub>2</sub>コーティングシリカゲルを使用した光触媒装置を設置し、オイカワを飼育している水槽の水を循環させ、TiO<sub>2</sub>コーティングシリカゲルが水槽水の殺菌に効果を発揮するか、飼育している魚の水環境に影響を及ぼすかを調べた。水槽水の分析は、日本分析化学会北海道支部編「水の分析」<sup>4)</sup>に従った。また、TiO<sub>2</sub>コーティングシリカゲルを使用して、菌が殺菌されるかを調べるために、滅菌シャーレにTiO<sub>2</sub>コーティングシリカゲルを30cm<sup>3</sup>入れ、そこにオイカワを飼育している水槽の水30cm<sup>3</sup>を入れ、ブラックライトランプ(BL)照射下および暗所下に1時間から4時間放置し、CCプレート(スリーエム社製)上でのグラム陰性菌の増減を調べた。

## 3. 結果及び考察

### 3-1. 酸化チタンコーティングシリカゲルの作製と光触媒特性評価について

図1にTiO<sub>2</sub>コーティングシリカゲル作成時に坩堝に残った粉体試料の、粉末X線回折(XRD)結果を示した。550℃での焼成はアナターゼ型TiO<sub>2</sub>のみの

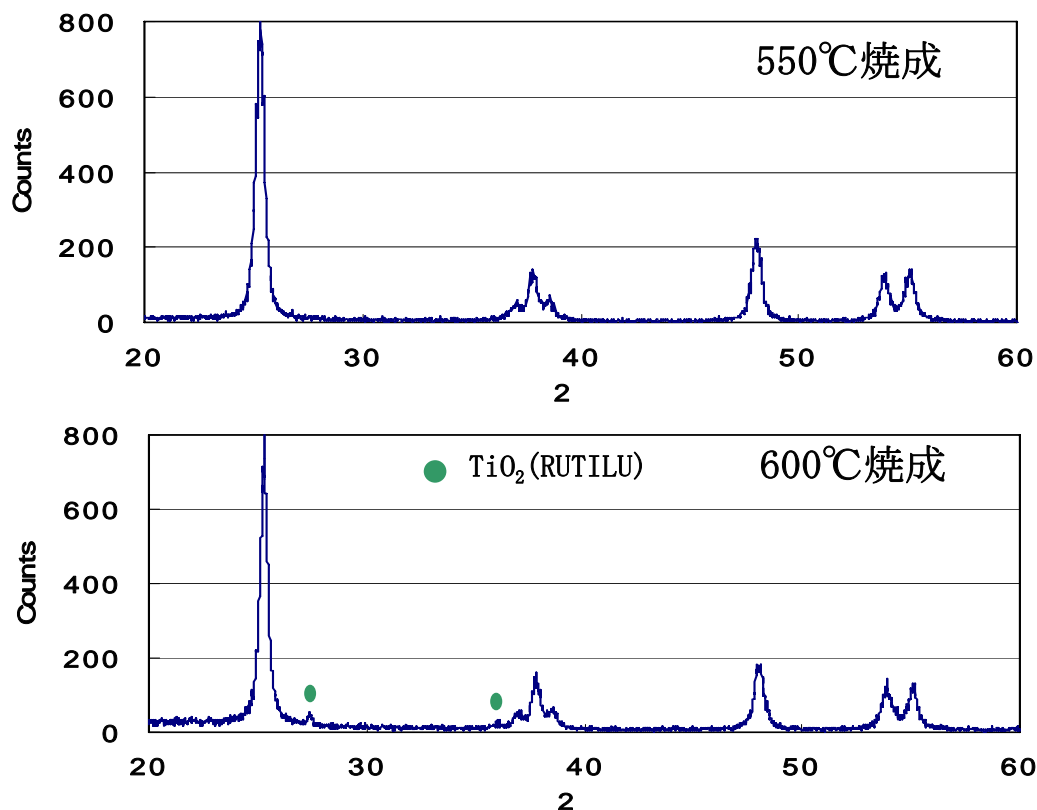


図1 550℃焼成及び600℃焼成して、作製したTiO<sub>2</sub>アナターゼのXRD回折

ピークが得られたが、TiO<sub>2</sub>コーティングシリカゲルの表面の酸化チタン膜中に有機物由来と考えられる残留炭素が存在していた。600°Cで焼成した試料では、酸化チタン膜中の残留炭素は見られなくなったが、アナターゼ型のピークと共にルチル型TiO<sub>2</sub>のピークがわずかに現れた。

550°C焼成のTiO<sub>2</sub>コーティングシリカゲルと、600°C焼成のTiO<sub>2</sub>コーティングシリカゲルのメチレンブルー分解性能に相違いがあるか調べるために、 $1.0 \times 10^{-2} \text{g/dm}^3$ メチレンブルー溶液 50cm<sup>3</sup>に作製したTiO<sub>2</sub>コーティングシリカゲルを5cm<sup>3</sup>入れ、ブラ

ックライトランプ照射下に、0.5時間から72時間放置した(図2)。

光照射下に放置後、メチレンブルー溶液の吸光度測定を行い、あらかじめ作製した検量線からメチレンブルー濃度を算出した。メチレンブルー分解実験の繰り返し回数が1回目も、4回目においても、ブラックライトランプ24時間照射で、550°C焼成試料および600°C焼成試料を用いることで共に、溶液中のメチレンブルー濃度は $1.0 \times 10^{-5} \text{g/dm}^3$ 以下まで低下した。

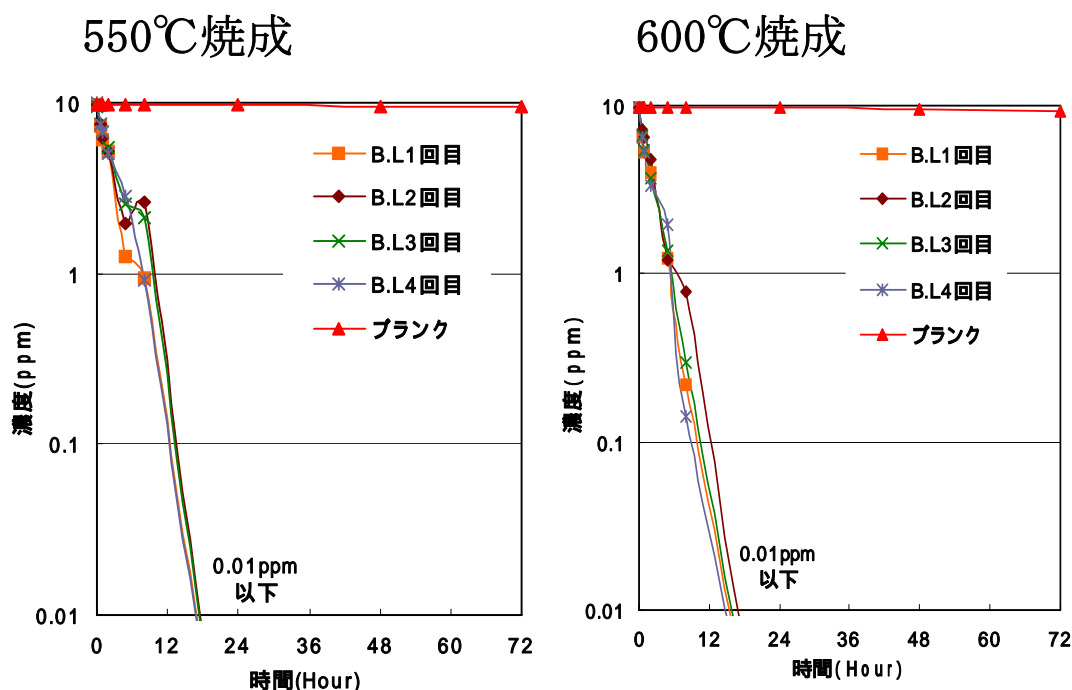


図2 550°C焼成及び600°C焼成で作製したTiO<sub>2</sub>担持シリカゲルによるメチレンブルー分解特性

母材にシリカゲルを使用しているためにメチレンブルーのシリカゲルへの吸着の影響も考え、メチレンブルー分解試験後のTiO<sub>2</sub>コーティングシリカゲルを写真に撮り、ブラックライトランプ照射下での試料の色調変化を比較した(図3)。写真より初期段階では、TiO<sub>2</sub>コーティングシリカゲルへのメチレンブルー吸着が優先するが、シリカゲルが溶液中のメチレンブルーを完全に吸着してしまうと、酸化チタンによるメチレンブルーの分解が始まり、24時間から48時間後には、図3に示したように、メチレンブルー分解試験前のTiO<sub>2</sub>コーティングシリカゲルの色と同程度になっており、メチレン

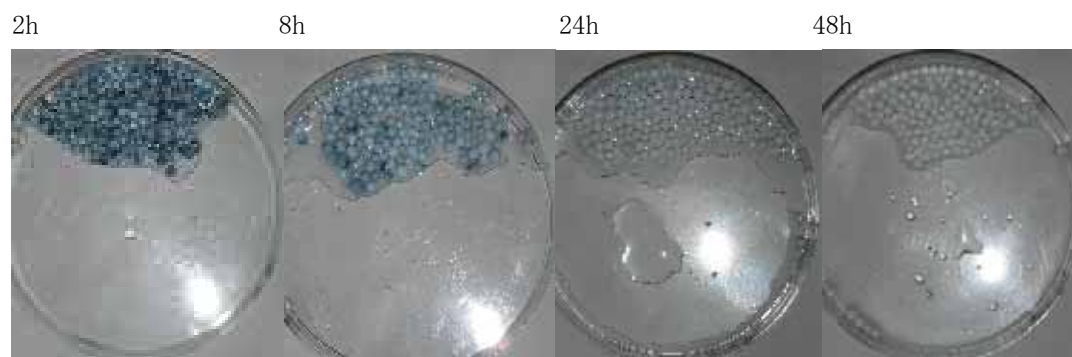
ブルーが分解されていることが明らかになった。また、550°C焼成試料と600°C焼成試料の色調の変化の時間依存性に差がないことから、両試料での分解性能はほぼ変わらないものと判断した。

つぎに、走査型電子顕微鏡(SEM)によりTiO<sub>2</sub>コーティング前のシリカゲルの表面及び、600°C焼成によるTiO<sub>2</sub>コーティングシリカゲルの表面及び断面の微細構造を観察した(図4)。シリカゲルは多孔質なため、表面に凹凸があることが観察される。TiO<sub>2</sub>コーティングシリカゲルは表面の酸化チタン膜に亀裂が入っていた。この亀裂部分から、溶液中のメチレンブルーがシリカゲル内部にまで浸透し、吸着

されたと考えられる。また、シリカゲルの表面につ  
いている酸化チタンの膜厚は、断面 SEM 写真から、

およそ  $0.26\sim 0.28\ \mu\text{m}$  であった。

### 550°C焼成



### 600°C焼成

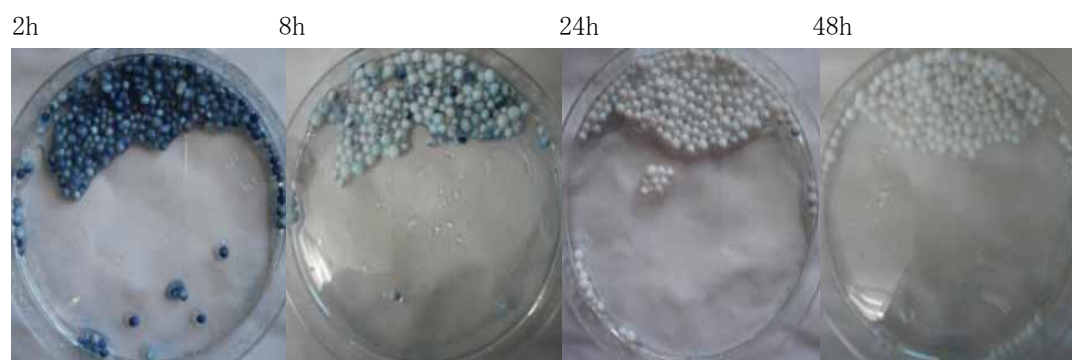


図 3 550°C焼成及び 600°C焼成して、作製した光触媒シリカゲルのメチレンブルー分解試験後のブラックランプ照射下における色調変化の時間依存性

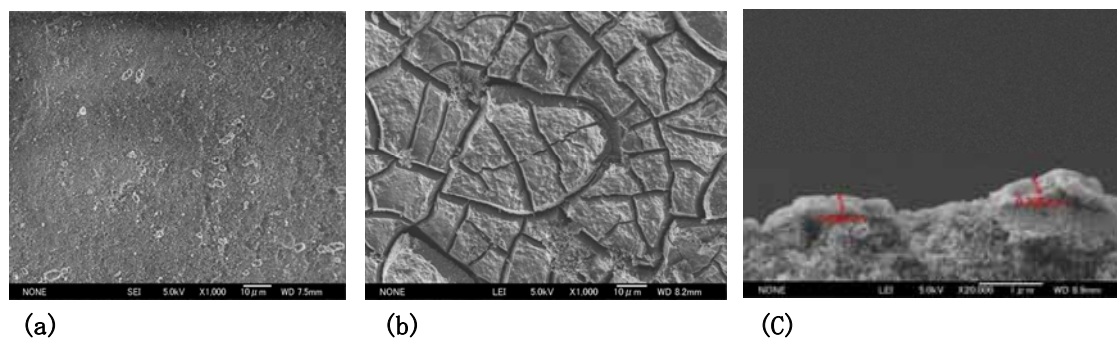


図 4  $\text{TiO}_2$ コーティングシリカゲルの表面及び断面の SEM 写真  
(a) シリカゲルの表面 SEM 写真 (b)  $\text{TiO}_2$ コーティングシリカゲルの表面 SEM 写真  
(c)  $\text{TiO}_2$ コーティングシリカゲルの断面 SEM 写真

### 3-2. 養魚水槽への酸化チタンコーティングシリカゲル適用による抗菌作用評価について

前述した  $\text{TiO}_2$  コーティングシリカゲルを用いて養殖魚の水環境への影響を調べるために、光触媒抗

菌装置とろ過装置を設置した水槽(オイカワを飼育)と、比較のためのろ過装置のみを設置した水槽(オイカワを飼育)の概略図を図5に示した。

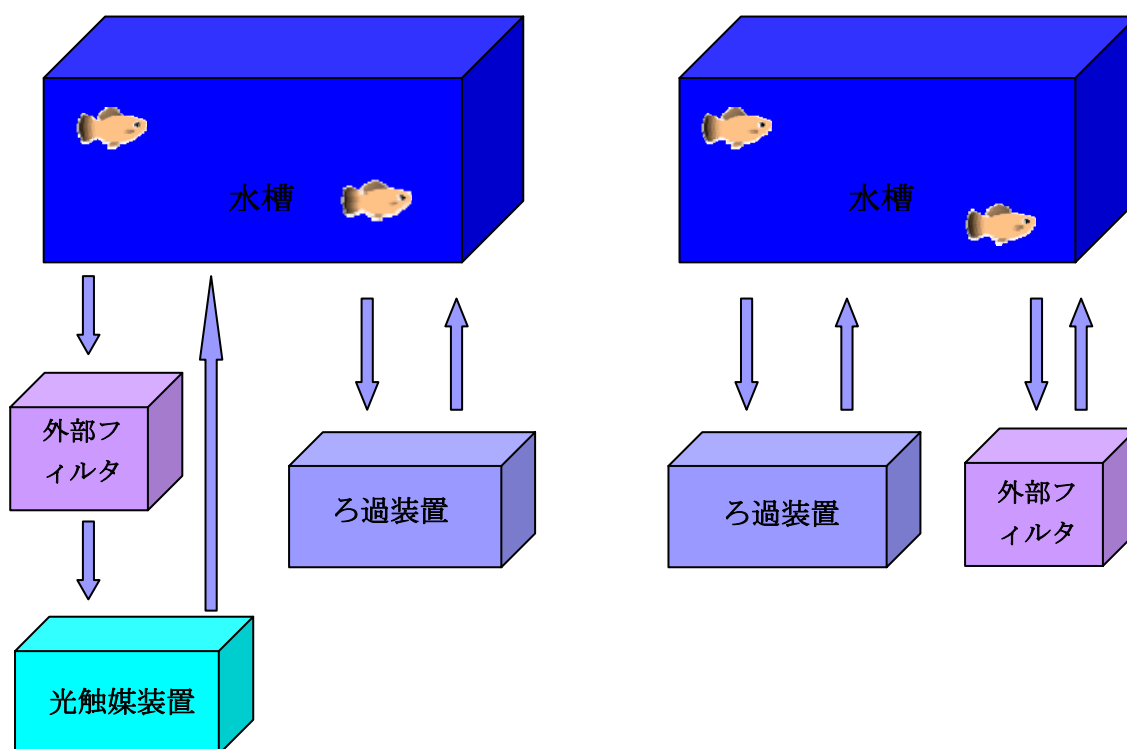


図5 光触媒抗菌装置を組み込んだ水槽及び、比較のためのろ過装置のみの水槽

濾過装置は市販のものを使用しているため、別々に水を循環させることにした。また、なるべくコケ(クサビケイソウ、ハリケイソウ、クチビルケイソウ等)が光触媒抗菌装置に行くのを防ぐために水槽と光触媒抗菌装置の間に外部フィルターを設置した。水槽に設置した光触媒抗菌装置については、実験開始10週目までは、ブラックライトランプ1本を用いた  $\text{TiO}_2$  コーティングシリカゲル  $200\text{cm}^3$  の装置を使用していたが、光触媒の効果をもより明確にするため、11週目以降はブラックランプ5本を用いた  $\text{TiO}_2$  コーティングシリカゲル  $1000\text{cm}^3$  の抗菌装置に変更して実験を行った。

水槽に光触媒抗菌装置を設置し、ブラックランプを照射し始めた時点から以下の測定を行った。簡易型全窒素測定装置(TNP-10)により測定したアンモニア態窒素、亜硝酸態窒素、硝酸態窒素、全窒素の結果を図6に、水温、pH、Doの測定結果を図7に、

大腸菌群数の測定結果を図8に示した。青い線が光触媒抗菌装置を設置した水槽で、赤い線が光触媒を使用していない濾過のみの水槽の値である。アンモニア態窒素、亜硝酸態窒素、硝酸態窒素は、時間の経過に対し増加と減少を繰り返している。これは、バクテリアの影響であると考えられる。硝化細菌の一種であるニトロソモナスにより、アンモニア態窒素を亜硝酸態窒素に、もう一種の硝化細菌であるニトロバクターにより亜硝酸態窒素から硝酸態窒素に酸化していく。また、硝酸態窒素は増加し続けるものだが、11週以降は、 $20\sim 30\text{mg/L}$ の間で増減を繰り返している。これは、硝酸態窒素が水槽壁や光触媒シリカゲル表面に発生したコケ(クサビケイソウ、ハリケイソウ、クチビルケイソウ等)に養分として吸収されたためと考えられる。全窒素が増加していくのは、硝酸態窒素の増加や、餌の食べ残しが影響したためと考えられる。水温は、光触媒装置を

設置しているほうが、ブラックライトランプの熱で1℃ほど高くなった。ブラックライトランプの本数を5本に増やすと、2℃ほど高くなった。そのため、

光触媒抗菌装置への水の還流を停止すると、水温はランプを使用していない水槽と同じになった。

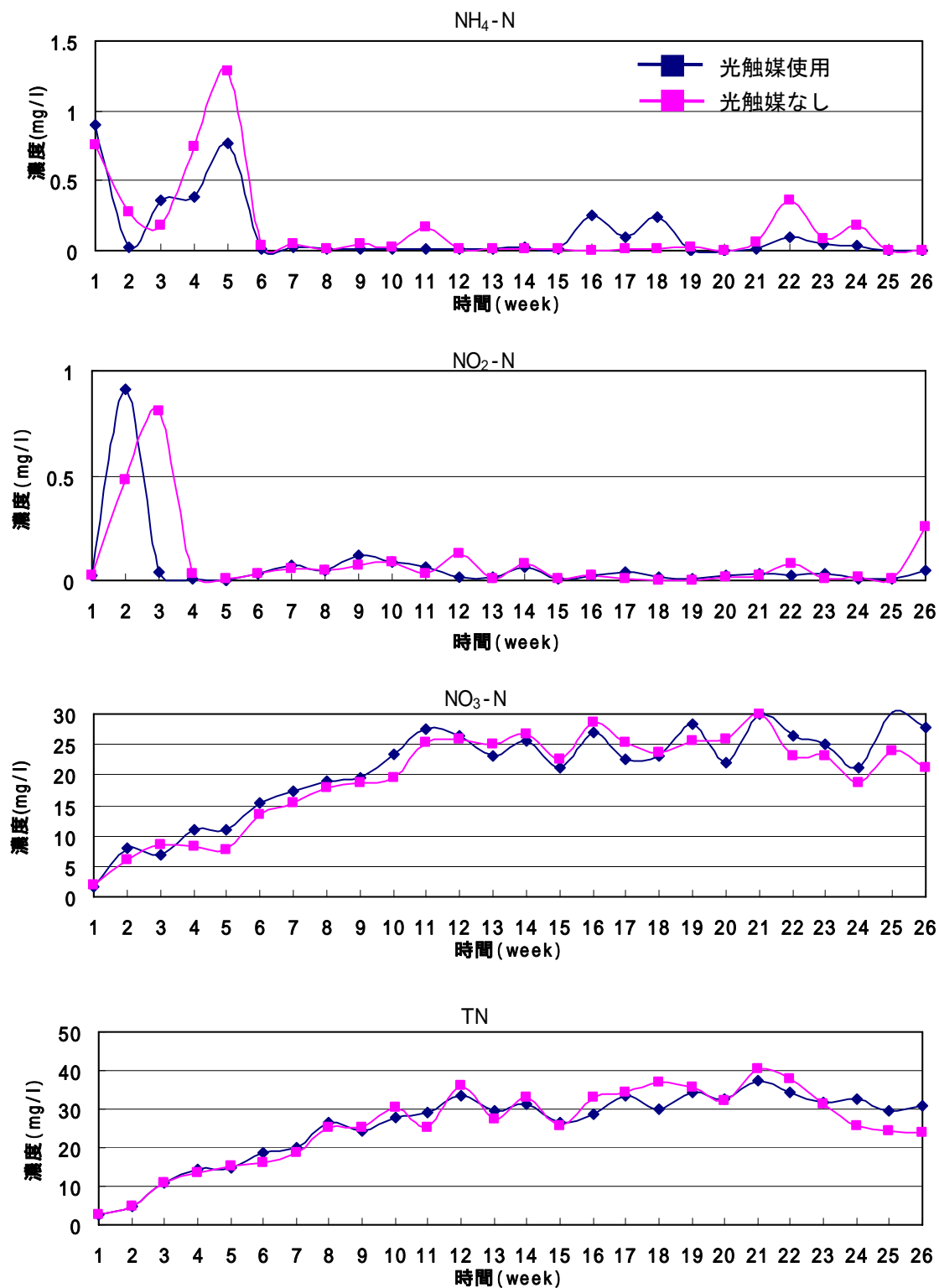


図6 TNP-10 での測定したアンモニア態窒素、亜硝酸態窒素、硝酸態窒素、全窒素の濃度と経過時間の関係

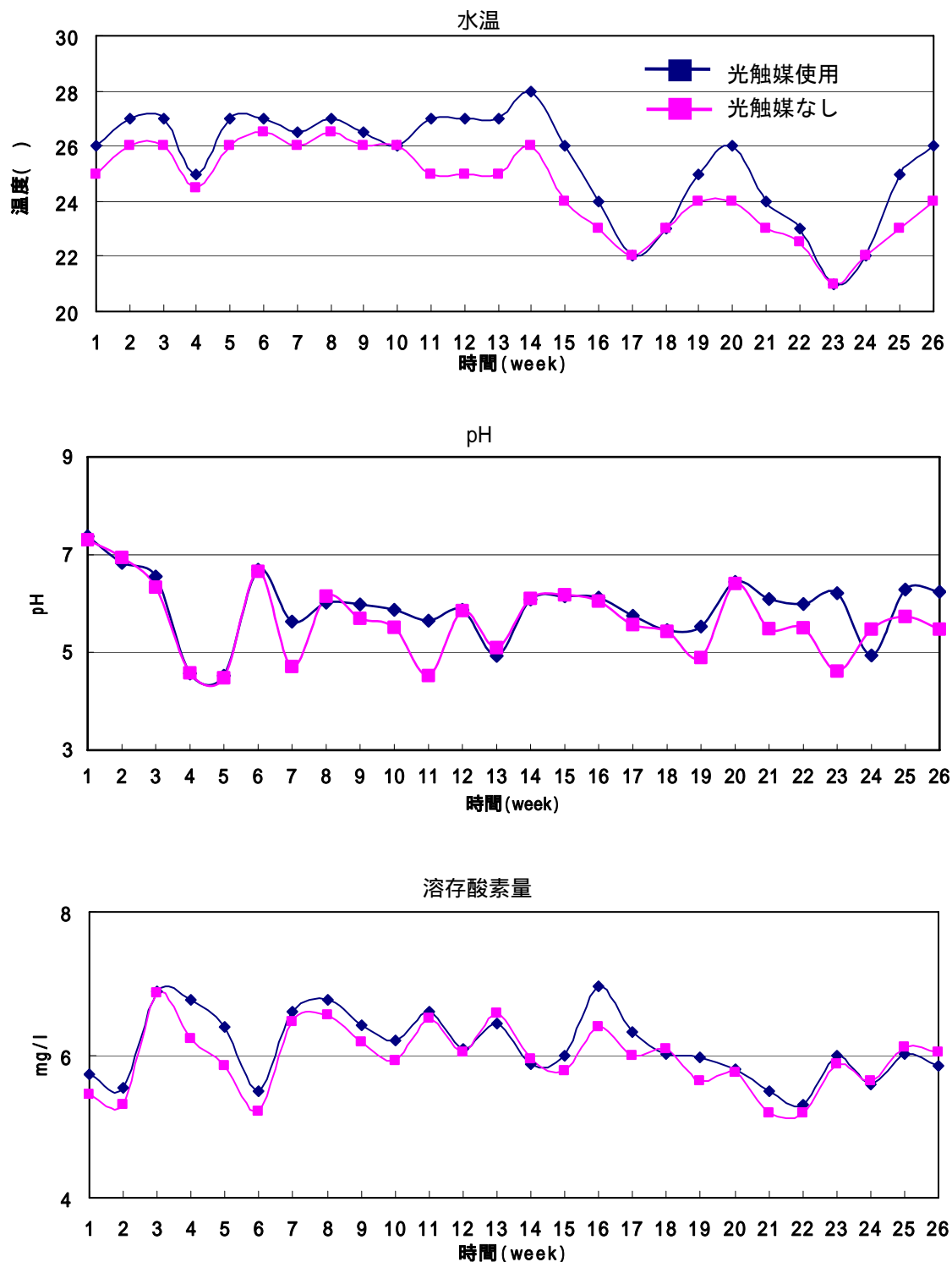


図7 水槽の水温, pH, Do と経過時間の関係

pHは硝酸態窒素が増加するごとに酸性側に低下した。pHが上昇し、pH=6~7に近づいているところは、水槽の水を1/3程度換えたことを表している。

溶存酸素は5~7mg/Lの間で増減を繰り返した。これは水温の変化や、コケの光合成が影響したものと考えられる。さらに、有機物が水中に多い場合に

も、微生物が水中の酸素を消費するため、溶存酸素は増減を繰り返したと考えられる。大腸菌群は、はじめの4週間、ほとんど存在しなかった。しかし、魚を飼育している上で、大腸菌群は必ず存在する。ろ過装置のみの水槽にも大腸菌群の存在が見られなかったため、今までの採水方法に問題があったと

考えられた。すなわち、大腸菌群などの菌は、均一に水槽の水の中に存在するわけではない。水槽から無造作に採水した1cm<sup>3</sup>分の水をCCプレート上に滴下するのであるが、その1cm<sup>3</sup>中にどれだけの量の大腸菌群が含まれているかが問題になってくる。そこで、水槽の水を良くかき混ぜて大腸菌群が水槽水中に一樣に分布するようにしてから採水し、測定するようにした。このようにすることで、再現性良く大腸菌群数を測定することができるようになった。また、大腸菌群数が急激に増加している4400CFU/ml及び、2400CFU/mlという測定値は、ホースや水槽の壁面などに固まっていた大腸菌群などが、たまたま採水されてしまったために、大きな

値になったものと考えている。11週目以降光触媒抗菌装置を5倍の大きさのものに変更後、大腸菌群数は減少した。これは、酸化チタンの殺菌効果と考えられる。また、今回は、TiO<sub>2</sub>担持シリカゲル表面にコケの付着を確認した場合、光触媒抗菌装置への水の流れをいったん停止し、3週間ほど水槽中の大腸菌群の増減を観察した。TiO<sub>2</sub>担持シリカゲルのコケを除去した後、新しいフィルターに取り換え、水の循環を再び開始した。光触媒抗菌装置を止めると、大腸菌群は増加する傾向にあり、光触媒抗菌装置を再開すると大腸菌群は減少したことから、今回設置した光触媒抗菌装置は大腸菌群の殺菌に効果があることがわかった。

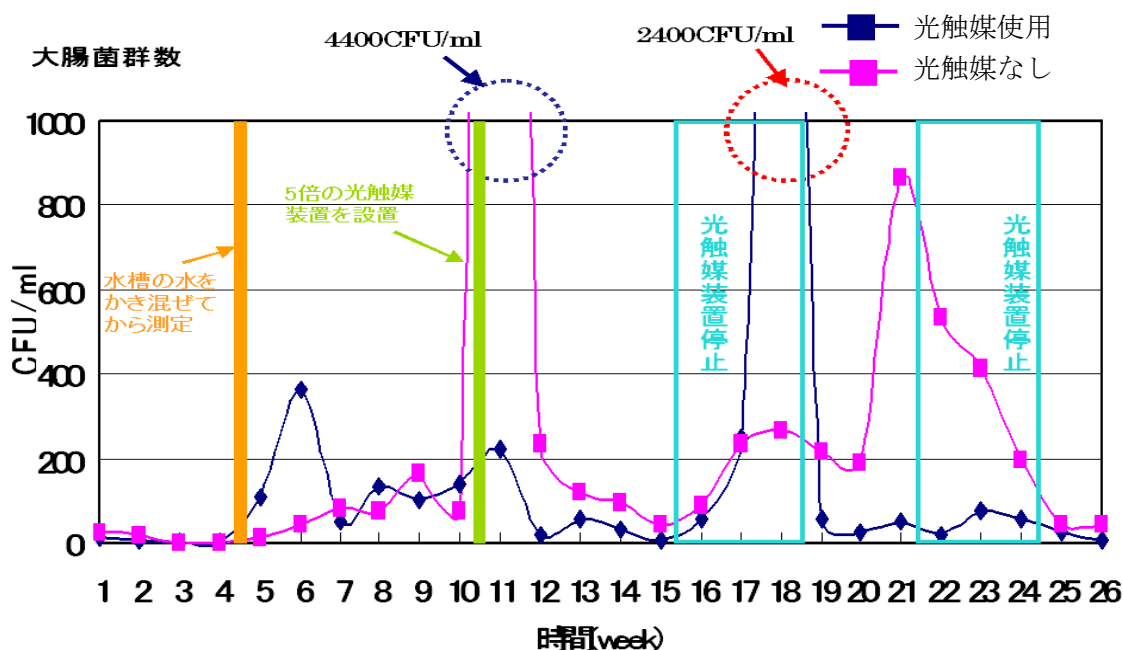


図8 大腸菌群数と経過時間の関係

走査型電子顕微鏡(SEM)により、光触媒抗菌装置内で4週間使用後および26週間使用後のTiO<sub>2</sub>コーティングシリカゲル表面の状態を観察した(図9)。

これより、今回作製したTiO<sub>2</sub>コーティングシリカゲルは長期使用しても酸化チタンが剥がれていないことが明らかとなった。

さらにTiO<sub>2</sub>コーティングシリカゲルを使用して、

グラム陰性菌が殺菌されるかを調べるために、滅菌シャーレにTiO<sub>2</sub>コーティングシリカゲルを30cm<sup>3</sup>入れ、そこに水槽の水(魚を飼育)を30cm<sup>3</sup>入れ、1h, 2h, 3h, 4h、ブラックライトランプ(B.L)照射下及び、暗所下に放置し、CCプレート上に1cm<sup>3</sup>滴下し、35℃の恒温槽24時間培養後、グラム陰性菌の増減を調べた結果を図10に示した。



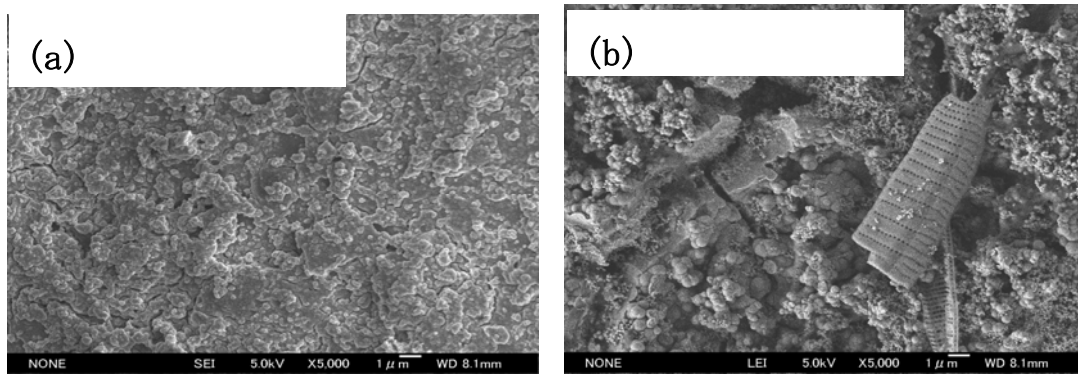
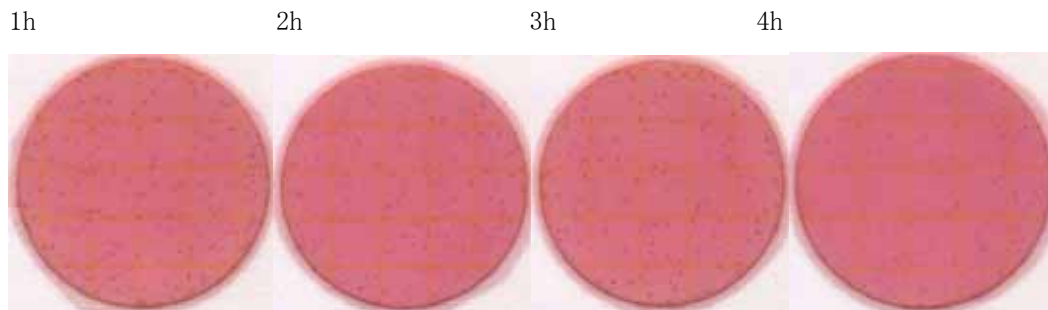
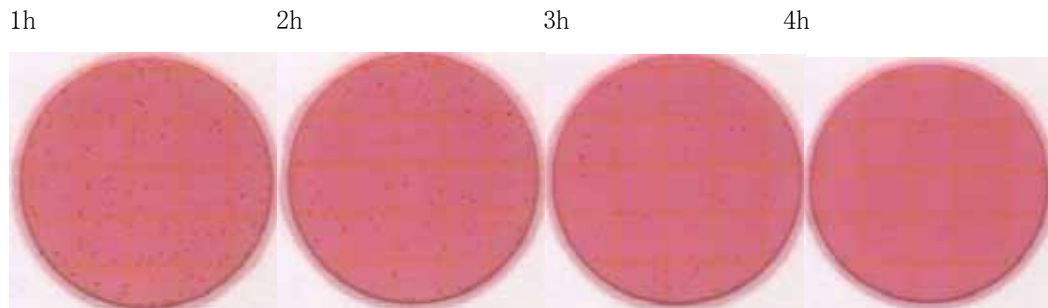


図9 走査型電子顕微鏡 (SEM) により撮影した、光触媒抗菌装置内で使用後の TiO<sub>2</sub> コーティングシリカゲル表面 (a)4 週間使用後 (b)26 週間使用後

ブランク B.L 照射下



TiO<sub>2</sub> コーティングシリカゲル B.L 照射下



TiO<sub>2</sub> コーティングシリカゲル Dark

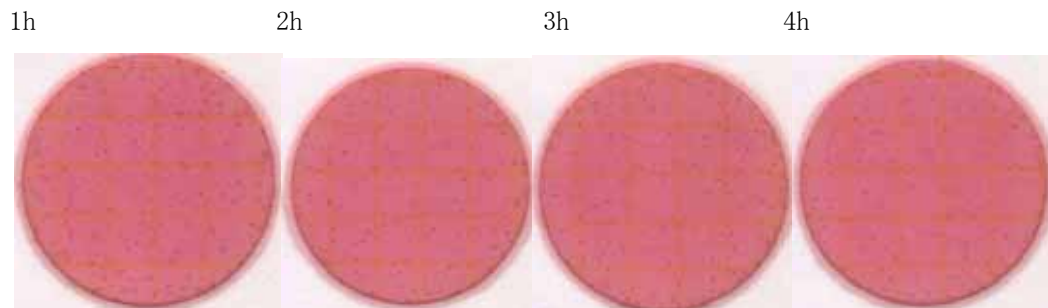


図10 CC プレート上でのグラム陰性菌培養に及ぼす TiO<sub>2</sub> コーティングシリカゲルの影響

CC プレート上では、グラム陰性菌は赤いコロニーになって現れる。

実験前、グラム陰性菌がかなりの数存在していることを観察できる。B.L 照射下に放置しただけでも、

時間の経過に伴いグラム陰性菌の減少が多少見られた。TiO<sub>2</sub>コーティングシリカゲルを入れ、B.Lを照射したものは、急激に菌が減少した。しかし、光触媒シリカゲルを入れ、暗所下で放置したものは、菌の減少がほとんど見られなかった。このことより、酸化チタンの光触媒効果による殺菌作用が明確に確認された。

#### 4. 結論

- 1) 600°C焼成により、接着強度が強く、酸化チタン膜中の残留炭素がほとんど存在しないTiO<sub>2</sub>コーティングシリカゲルを作製することができた。
- 2) 光触媒抗菌装置に、魚を飼育している水槽の水を循環させ、水質を調べた実験では、酸化チタンによる大腸菌群の殺菌作用が確認された。しかし、コケがTiO<sub>2</sub>コーティングシリカゲルを覆ってしまうと、光を遮断してしまい、酸化チタンの効果は減少した。

3) CCプレートにより、TiO<sub>2</sub>コーティングシリカゲルによるグラム陰性菌の殺菌作用を調べた結果、酸化チタンによる殺菌効果を確認できた。

#### 5. 参考文献

- 1) 矢田貞美 編著：養殖・蓄養システムと水管理，恒星社厚生閣，2004，pp23-28，pp90-95
- 2) 野坂芳雄・野坂篤子 著：入門光触媒，東京図書株式会社，2004，pp2-202) 高機能光触媒創製と応用技術研究会 編 安保正一 監修：高機能な酸化チタン光触媒～環境浄化・材料開発から規格化・標準化まで，株式会社，エヌ・ティス，2004，pp269-279
- 3) G・アレクサンダー 著：シリカと私，東京化学同人，1971，pp29-65
- 4) 日本分析化学会北海道支部 編：水の分析，株式会社化学同人，1981，pp210-220，pp259-280