

II-425

上昇流スラッジベット (UASB) 反応器におけるグラニュール汚泥の
細胞外ポリマーの分画と化学的性質について

長岡技術科学大学 ○学 町屋 孝浩
長岡技術科学大学 正 原田 秀樹
長岡技術科学大学 正 桃井 清至
三機工業（株） 打川 清孝

はじめに。

UASB法は、付着担体を用いないで汚泥のペレット化もしくはグラニュール化によって高濃度の生物量を保持しようとする、いうならば自己固定化菌体法ともいえる。従って、その処理性能の成否は、嫌気性微生物のグラニュール化増殖に支配されている。グラニュールは、加水分解、酸発酵を行なう酸生成菌が生成分泌する細胞外ポリマー（ECP）により菌同志が相互に付着しち密なアグリゲートとして発達するものと考えられている。本報では、UASB反応器における汚泥のグラニュール化に大きく関与していると思われる ECPを抽出してエタノール沈殿、除たん白の前処理を行ない、ゲルろ過、陰イオン交換クロマトグラフィにより分画し化学的性質について検討した。

実験結果。

写真1は、スターチ+シクロース基質（流入COD 3,000mg/l, COD負荷17kgCOD/m day）で培養形成したグラニュールの表面近傍の透過型電子顕微鏡写真である。染色剤としてルテニウムレッドを用いた。これは、よく酸性多糖を染色する。これより染色された ECPには、細胞表面全体を密にコーティングしているのと、それより比較的に粗いfibrous構造をなし細胞同志の付着にAdhesive substanceとして作用しているものの2つのタイプがあることが観察される。

スターチ+シクロース基質、シクロース基質、蔗糖蜜基質、VFA mixture 基質、酢酸基質で培養形成したグラニュールから抽出したECP の糖、ウロン酸、アミノ糖の含量を表1に示す。炭水化物系の基質で培養形成したグラニュールのECP では、糖、ウロン酸、アミノ糖のそれぞれの含量は、約22-34mg/gvss、8.5-12mg/gvss、9.4-13mg/gvssであった。それに対してVFA mixture 基質、酢酸基質では、約7.0-9.1mg/gvss、4.5-6.8mg/gvss、9.1-13mg/gvssであった。両者を比べた場合アミノ糖以外の糖、ウロン酸の含量が多かった。これは、酸生成菌が炭水化物系の基質で培養形成したグラニュールに多量に存在しECP を生成分泌しているためである。そこで、炭水化物系の基質で培養形成したグラニュールのECPの分画と化学組成を決定する実験をした。



写真-1

スターチ+シクロース基質で培養形成した
グラニュール表面近傍の透過型電子顕微鏡写真
(*20,000, Bar:1μm)

表-1 種々の基質により培養形成したグラニュール汚泥の
細胞外ポリマー中の糖、ウロン酸、アミノ糖の含量

Cultivated on	Extra cellular (mg/gvss)		
	sugar	uronic acid	amino sugar
Acetic acid	9.11	4.52	9.1
VFA mixture	6.96	6.80	12.8
Starch+Sucrose	26.9	8.53	11.1
Molasses	34.3	12.2	13.2
Sucrose	21.9	10.8	9.4

図-1に作業フローチャートを示す。採取したグラニユー汚泥をホモジナイズし、水蒸気抽出(104°C, 0.05kg/cm)を20分間行ない、遠心分離(4°C, 8,000rpm, 20分間)に2回かけ上澄液を、ECPとして回収した。さらに、エタノール沈殿し、5%トリクロール酢酸(TCA)水溶液を加え除たん白をした。TCAはエーテルを用いて除去し、純水による流水透析(5°C, 72時間)にかけた。ゲルろ過分画は、Sephacrose CL-2Bを用い pH7.0のリン酸緩衝液(50mM Na HPO と50mM NaH PO、イオン強度0.5)を使用した。図-2にゲルろ過による全糖の分画結果を示す。全糖は、フェノール硫酸法により定量した。糖は、2画分と3画分が重なり合い完全には分離されていなかった。そこでさらに、陰イオン交換クロマトグラフィ(DEAE-Sephadex A-25)による分画を試みた。緩衝液は、pH7.0 Tris-HClを用い、イオン強度は0-2まで変化させた。図-3に陰イオン交換クロマトグラフィによる全糖、ウロン酸、6-デオキシヘキソースの分画結果を示す。ゲルろ過分画の場合と比べ細胞多糖が3つの画分に分離した。ECPの各分画成分の凝集活性を調べるためカオリンによる凝集実験を行なった。カオリンによる凝集実験は、200mg/lのカオリンとECPの容積比を1:3として混合し、35分間静置後500nmで吸光度測定を行なった。その結果、第1画分のピークにおいて凝集活性が認められ、第2,3画分では認められなかった。また、ウロン酸、6-デオキシヘキソースの構成の差異は見られなかった。

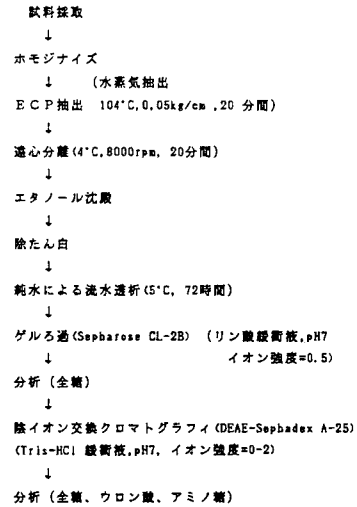


図-1 作業フローチャート

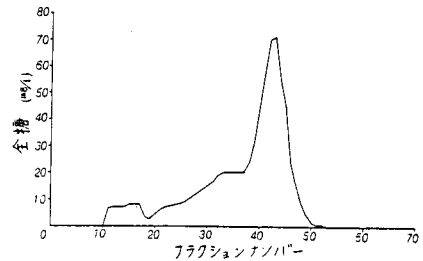


図-2 ゲルろ過による細胞外ポリマーの分画結果

おわりに。

炭水化物系の基質で培養形成したグラニユールのECPを構成する糖の大部分は、ウロン酸であった。陰イオン交換クロマトグラフィを使用して分画を行なったが、構成糖の差異は認められなかった。今後、ECPの各成分の単離とその化学的組成を把握していく予定である。

本研究は文部省科研費〔試験研究(1)〕によって補助を受けたことを付記する。

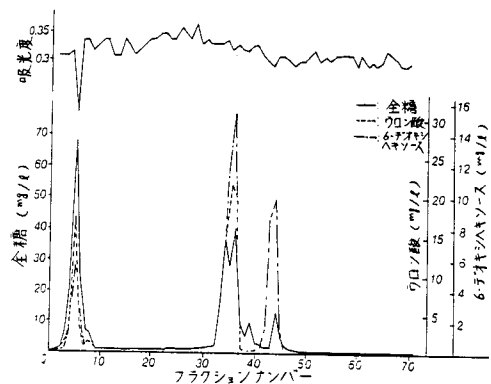


図-3 陰イオン交換クロマトグラフィによる

細胞外ポリマーの分画結果