

PS II-30

嫌気性微生物の付着に関する研究

東北大学院 学○松本明人

東北大学院 学 宮原高志

東北大工学部 正 野池達也

1) はじめに.

一般に、微生物の付着は、次の二段プロセスから成ると考えられている。

- ① 初期の可逆的付着（マイクロ秒～ミリ秒単位で終了する物理、化学的作用による付着）
- ② それに続く永続的付着（細胞外ポリマーによる付着）

現在考えられている生物膜形成の焦点としては、④生物膜を形成させる担体の種類、⑥微生物の出す細胞外ポリマーの同定、⑦ Ca^{2+} など二価のカチオンが生物膜形成に及ぼす影響、といったものが主なものであり生物膜形成のメカニズムの解明といった研究は余りなされていない。

本実験では、様々な基質で培養した嫌気性消化槽混合液に、疎水性物質である炭化水素（n-hexadecane）を加え、n-hexadecaneへの微生物の吸着の様子を観察することにより、微生物の疎水性を調べ（水中で、疎水性の物質どうしが会合するという原理に基づく。）嫌気性微生物の付着機構を解明しようというものである。なお、本実験における付着は、①の初期可逆的付着に属するものである。

2) 疎水性について、¹⁾

水分子は、酸素原子の高い電気陰性度のために電子雲に偏りが生じ、水素原子は正に、酸素原子は負に帯電する傾向がある。その結果、水分子は、ファン・デル・ワールス力のほか、水素結合と呼ばれる結合により、強く結合している。従って水分子はかなり規則的構造を持っており（例えば、37℃のとき、約15%の水分子が四つもほかの水分子と会合して、寿命の短い集合体を形成している。）、このような規則構造を持つ水の中に、油のような疎水性物質を添加すると、疎水性物質の周辺の水は、通常の水とは異なった、より氷に近い強固な規則構造を形成し、疎水性物質は水より排除され、おたがいに集合する。この集合体に働く力（水の規則構造より排除される力）が、疎水性相互作用と呼ばれるものである。計算によると、この疎水性相互作用による力により、担体より10nmのところでは、ファン・デル・ワールス力に匹敵する大きさで、微生物は担体に吸着されている。実際、Fattomらが、ラン藻類の疎水性とその存在様式（付着型であるか浮遊型であるか）の関係を調べたところ、付着型のラン藻のすべてが疎水性であったと報告している。しかしながら、親水性の微生物のすべてが付着しないかというところではなく、多くの親水性微生物が細胞外ポリマーによって付着している。（柳田）²⁾以上述べてきたことを踏まえつつ、微生物の疎水性を調べることでより、微生物の付着機構を新たな観点より把握できるものと考えられる。

3) 実験方法.

実験方法は、Fattomらの方法¹⁾を多少修正して次の手順で行なった。

1. 窒素ガスを充填したゴム栓付きガラスチューブに5mlの試料を加える。
2. n-hexadecaneを0.5mlを上記のサンプルに加える。
3. 1分間、強く振る。（Touch Mixerによる。）
4. 5分間静置する。
5. 10秒間、ゆっくり掻混ぜる。
6. 5分間静置する。
7. 菌体の分離の様子を見る。（視覚による観察）
8. さらに20分静置後、菌体の分離の様子を見る。（視覚による観察）
9. n-hexadecaneを加えない試料についても2～8の手順に従い測定を行ない、n-hexadecaneを加えた場合と比較する。

実験は、3回行なったが、反応温度（第3回目の実験は35℃、その他は25℃）、n-hexadecane添加量（第3回目の実験は1ml、その他は0.5ml）に変更があった。実験に用いた試料は次の通り。

1. 澱粉を基質とした酸生成相汚泥
2. 混合酸を基質としたメタン生成相汚泥
3. 酢酸を単一基質と

したメタン生成相汚泥 4. ギ酸を単一基質としたメタン生成相汚泥 5. 下水道試験法による硫酸還元菌用培地で培養した硫酸還元菌集積汚泥 6. ベビーミルクを基質とした嫌気性消化汚泥 7. セルロースを基質とした嫌気性消化汚泥

いずれも、35℃で培養した。試料1、6、7には、 SO_4^{2-} が基質中に含まれておらず、その他の試料の基質には含まれている。

4) 実験結果及び考察.

実験結果を表1にまとめて示す。

表1 実験結果

試料名	性状	SO_4^{2-}	第1回結果	第2回結果	第3回結果
澱粉基質の酸生成相	乳白色	無	吸着なし	吸着なし	吸着なし
酢酸基質のメタン生成相	黒灰色	有	吸着なし	吸着なし	
混合酸基質のメタン生成相	黒色	有	かなり吸着	やや吸着	かなり吸着
ギ酸基質のメタン生成相	黒灰色	有		やや吸着	やや吸着
硫酸還元菌汚泥	黒色	有		やや吸着	やや吸着
ベビーミルク基質の嫌気性消化汚泥	乳白色	無	吸着なし	吸着なし	
セルロース基質の嫌気性消化汚泥	乳白色	無	吸着なし	吸着なし	

3回の実験結果には、かなり変動があったが、混合酸基質汚泥がもっともよく吸着され、ギ酸、硫酸還元菌基質汚泥も若干吸着された。一方、酢酸単一、ベビーミルク、セルロース基質ならびに澱粉基質を用いた酸生成汚泥は吸着されていなかった。以上の結果より、酢酸資化性メタン菌や酸生成菌は親水性であると考えられる。ギ酸資化性メタン菌や硫酸還元菌については、余りはっきりしたことは言えないが、親水性であると考えられる。一方、混合酸基質汚泥がかなり疎水性であったことは興味深い結果である。その原因については、現段階ではよく分からないが、混合酸基質ではグラニュール汚泥や生物膜が生成され易いという従来の報告と一致するものと思われる。更に、親水性の酢酸資化性のメタン菌や酸生成菌が、グラニュール汚泥や生物膜を形成するためには、槽内水の水理学的作用や生成ガスによる菌体どうしの絡み合いや担体による機械的捕捉、菌体の出す細胞外ポリマーによる付着が不可欠と思われる。

5) おわりに.

今回の実験では、3回の実験結果にむらがあり、しかも吸着された微生物量の定量も成功しなかった。しかしながら、微生物の疎水性をはかることにより、微生物の付着機構の解明もある程度可能と思われる。更に、合理的な微生物付着用担体の選択や膜分離用膜への応用も考えられるので、今後検討を重ね実験を進めていきたい。