

II-499

好気性微生物群のフロック形成因子に関する研究

長岡技術科学大学
長岡技術科学大学
アジア工科大学
(株) 鴻池組

○学生員 末吉裕紀
正 員 桃井清至 正 員 滝沢 智
正 員 原田秀樹
正 員 橋 敏明

1. はじめに

現在、廃水処理システムとして広く行われている活性汚泥法において最も重要なものは、微生物自身の凝集、集塊による沈降性のよいフロックの形成である。このような微生物の凝集には細胞外ポリマーが大きな役割を果たしていると考えられている。しかしその凝集機構や凝集に関与している物質、役割については不明な点が多い。

本報では、活性汚泥から細胞外ポリマーを抽出するための条件の検討、および抽出したポリマーをSeph-
arose CL-2Bで分子分画し、凝集に関与している物質について嫌気性微生物群から抽出したポリマーと比較
した実験結果について報告する。

2. 実験方法

供試汚泥は下水処理場の活性汚泥を脱脂粉乳で約3ヶ月
間培養したものを、純水で1回基質洗浄したものである。
ポリマー抽出にはNaOHおよびNa₄-EDTA溶液を
用いた。最終濃度で0(純水のみ), 1, 5, 10, 20, 50mMになる
ように調製した各種抽出溶液と共試汚泥を混合しロータ
リーシェイカーで振とう(35°C, 138rpm, 180分)した。得ら
れた抽出液を遠心分離(4°C, 15000rpm, 10分)した後、上澄
み液を濾過(1.0μm1回, 0.65μm2回)し、濾液を蒸留水に
対して48時間透析したものをNaOH, EDTA抽出ポ
リマーとした。同様にして振とう時間を変化(10, 30, 60,
90, 120, 180分)させて抽出し抽出時間の影響を検討した。
得られたポリマーについてフェノール-硫酸法により全糖
を、ローリー法によりタンパクを測定した。凝集能試験
は以下の手順で行った。凝集基質としてカオリン懸濁液
1ml、Ca²⁺としてCaCl₂溶液1ml(それぞれ最終濃度300
ppm, 5mM)に抽出ポリマー1mlを加え純水で全量を10mlにし、
3分間穏やかに傾斜混合後15分間静置する。そして上澄み
4mlの濁度(OD₆₆₀)をカオリンのみを添加したブランクの
OD₆₆₀に対する比(以下相対濁度)で凝集能を評価した。抽
出ポリマーの分子分画にはSeph-
arose CL-2Bを用いた。溶
出液は0.1MN a c l 溶液、溶出速度は6.76, 7.50ml/cm²・h
(それぞれNaOH, EDTA抽出ポリマー)で、5mlを1フラク表-1 抽出時間と糖、タンパク抽出量の関係
ションとして溶出液を採取し、分画後の溶出液について糖、
タンパクの測定および凝集能を評価した。

3. 実験結果および考察

NaOH, EDTA抽出溶液の濃度を変化させた時の糖、
タンパクの抽出量の相違を図-1, 2に示す。NaOH溶液の場合、
1, 5mMでは糖、タンパクの抽出量は純水のみで抽出したときと
同程度であり、ポリマーはほとんど抽出できていないと考えら
れる。そして10mMで糖、タンパクの抽出が見受けられ以後溶液濃度が高くなるにつれて抽出量も増加した。
一方EDTA溶液の場合は、1mMで糖、タンパクが抽出できるが溶液濃度が高くなっても抽出量はあまり変
化しなかった。図-1, 2におけるBlank値は、全菌の糖、タンパク量を示すが、NaOH抽出においては溶液
濃度25mM以上で抽出される糖、タンパクの量は、Blank値に対してそれぞれ34~46%、24~48%を占めてい
る。また抽出される糖に対するタンパク比は抽出濃度の増加と共に上昇の傾向にあり、溶液濃度25mMで大

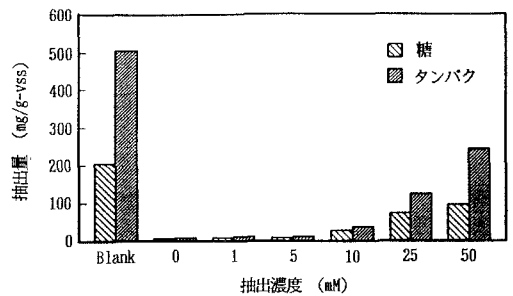


図-1 NaOH溶液による抽出状況

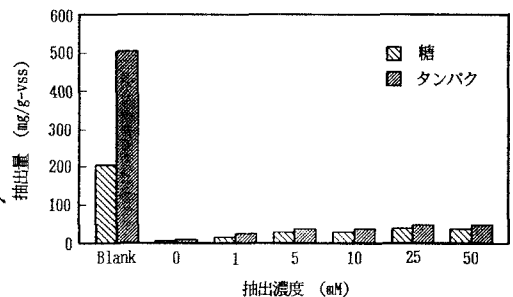


図-2 EDTA溶液による抽出状況

抽出時間 (min.)	抽出量 (mg/g-vss)	
	糖	タンパク
10	32.3	63.1
30	36.7	67.9
60	40.6	75.7
90	45.0	82.8
120	48.4	81.3
180	48.4	82.8

幅な上昇を示していることから、細胞壁の一部が破壊されている可能性を示唆している。また抽出溶液濃度を一定にして振とう時間を変化させた実験結果を表-1に示す。10分でも糖、タンパクを抽出でき180分でも抽出量には大きな変化がなく、抽出時間の影響は、抽出濃度の影響より小さいと思われる。次にそれぞれの溶液で抽出したポリマーをSephacrose CL-2Bで分子分画した結果を図-3,4に、嫌気性微生物群よりEDTA抽出したポリマーを同様に分子分画した結果を図-5¹⁾に示す。NaOH、EDTA抽出ポリマー共2つのピーク（それぞれピーク1、ピーク2）に分画された。凝集能は共にピーク1を含むFraction No.20～55の範囲に渡って認められた。この結果は嫌気性微生物群から抽出したポリマーの分子分画結果に類似しているが、嫌気性微生物群ではボイド溶出液が一番凝集能を発現し、凝集能発現物質はボイド容量で溶出する分子量 20×10^6 以上の多糖類、 40×10^6 のタンパクであると推察される。一方、好気性微生物群では、凝集能発現物質の存在範囲は少し広いように思われる。表-2にポリマー添加量と凝集能の関係を示す。ポリマー添加量が多くても必ずしも凝集能は増大せず凝集には最適の糖、タンパク濃度が存在することを示唆している。

表-2 ポリマー添加量と凝集能の関係

実験条件		相対濁度
ポリマーの種類	添加量 (ml)	
NaOH	1.00	0.704
	0.50	0.566
	0.20	0.303
	0.10	0.208
	0.05	0.136
	0.02	0.249
EDTA	1.00	0.581
	0.50	0.446
	0.20	0.382
	0.10	0.301
	0.05	0.224
	0.02	0.543

4. おわりに

本研究で以下の知見が得られた。1) 抽出溶液の濃度を覚えてポリマーの抽出を試みた結果、EDTA溶液では実験した濃度範囲では抽出量に大差はなかったが、NaOH溶液では10mMが最適濃度であった。2) 振とう時間によってポリマー抽出量は大きく変化しなかった。3) 好気性、嫌気性微生物の抽出ポリマーの分子分画の結果、共にピーク1物質が凝集能を発現した。4) 凝集には糖、タンパクの最適量が存在した。

参考文献 1) 橘敏明：嫌気性微生物群から抽出した細胞外ポリマーの凝集能および生化学的特性に関する研究，長岡技術科学大学大学院工学研究科修士論文(1990)

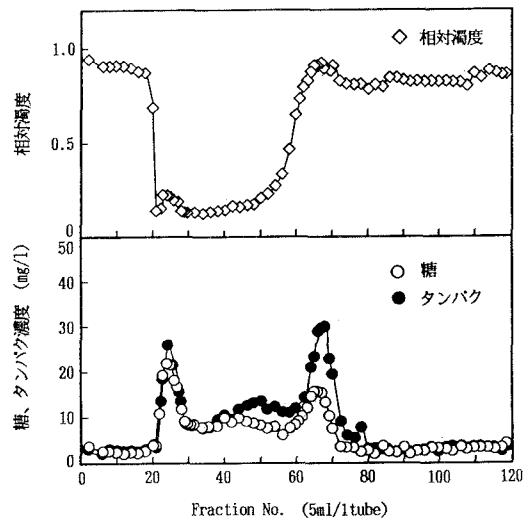


図-3 NaOH抽出ポリマーのSephacrose CL-2Bによる分子分画

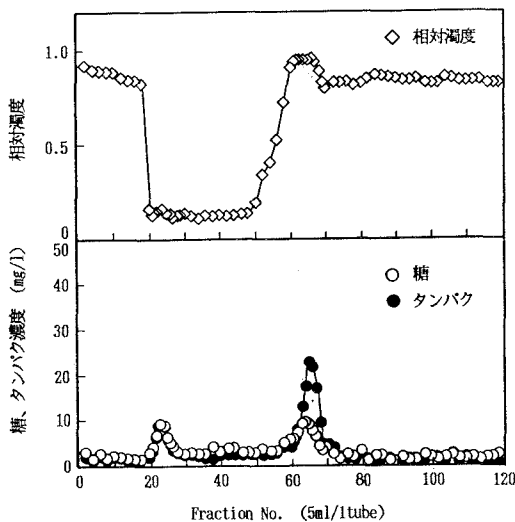


図-4 EDTA抽出ポリマーのSephacrose CL-2Bによる分子分画

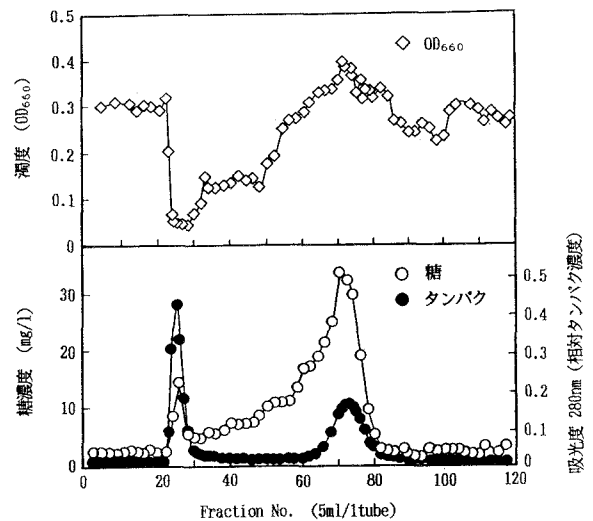


図-5 嫌気性微生物群のEDTA振とう抽出ポリマーのSephacrose CL-2Bによる分子分画