

II-139

NMRを用いた嫌気好気汚泥の貯蔵有機物の観察

東京大学工学部 学生会員 佐藤 弘泰

正会員 松尾 友矩

嫌気好気リン除去に関する基礎研究は、どちらかというリンの動態の解明に重点がおかれ、リン除去菌の優占化の鍵となる嫌気的有機物摂取についてはあまり有用な成果が得られていない。

本研究では、ポリリン酸蓄積汚泥に嫌気的に酢酸あるいはプロピオン酸を摂取させ、蓄積物質をNMR(核磁気共鳴)により観察した。NMRの利点は測定対象物中の全ての有機物の炭素原子あるいは水素原子を観察できることである。

供試汚泥

実験には実験室の連続式嫌気好気プラントで馴養した嫌気好気汚泥を好気槽末端から引き抜いて用いた。このプラントの流入水は酢酸・プロピオン酸・ペプトン・酵母エキスを有機源として含む合成下水である。この汚泥は良好なリン除去を示し、リン含有率約6%(mgP/mgMLSS)であった。

バッチ実験

連続槽好気末端から採取された汚泥は、まず窒素曝気により溶存酸素を取り除いた。その後所定の基質を約500mg/l程度の濃度になるように投与し、密栓した。6時間経過後汚泥を採取し、遠心濃縮した。なお、上澄み中の有機物はT O C(島津T O C-500)により追跡した。また、上澄み中のリン酸はリンモリブデン

酸法により、汚泥中の糖はアンスロン法により測定した。バッチ実験の一覧を表1に示す。

NMR

NMRは次のような手順で回収した汚泥内蓄積物質について観察した。まず、汚泥を凍結乾燥し、ソクスレー抽出器により熱クロロホルムで蓄積物質を抽出する。抽出液を濃縮し、10倍量のメタノールを徐々に加えて蓄積物質を析出し、濾紙で回収・乾燥する。測定核は ^{13}C および ^1H である。測定は抽出物質を重クロロホルム溶液として行った。

実験結果と考察

①. プロピオン酸単独摂取時の基質蓄積形態

プロトンデカップル ^{13}C NMRスペクトルを解析することにより、汚泥内蓄積物質を同定した結果、3-hydroxyvalerate(3HV)と3-hydroxy-2-methylvalerate(3H2MV)を主体とするPH

表1. 行われた各バッチ実験の概略

基質組成(モル比)	Ac:P	6:0	4:2	2:4	1:5	0:6
投与基質濃度	mgC/l	213	245	258	301	261
実験後の残存T O C	mgC/l	12	45	5	42	6
汚泥の性状						
MLSS	mgMLSS	5588	4056	4848	4820	4848
リン含有率(摂取前)%		6.28	6.16	6.27	6.06	6.73
リン含有率(摂取後)%		2.34	2.12	2.60	2.35	2.25
糖含有率(摂取前)%		12.3	12.8	12.9	12.3	11.7
糖含有率(摂取後)%		6.4	6.7	7.0	6.7	6.6
基質摂取6モル	糖 mol	1.2	1.1	1.1	1.1	1.1
当たりの代謝量	リン mol	4.4	3.7	3.4	3.8	4.9

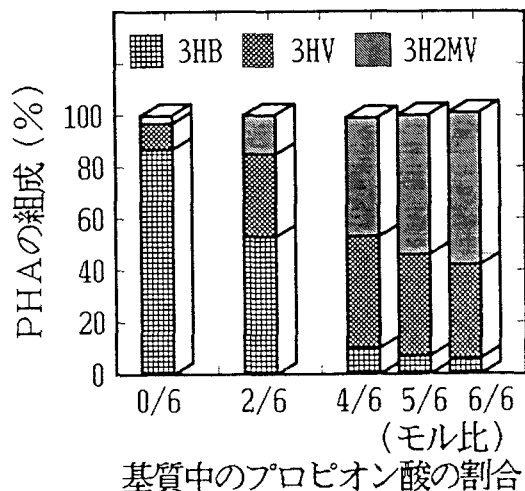


図1. 基質組成と生成されたPHAの組成

Aであることがわかった。

②. プロピオン酸と酢酸の同時投与

プロピオン酸と酢酸を混合した基質を汚泥に投与し、基質組成と生成される P H A の組成の関係を調べた。結果を図 1 に示す。組成の決定は図 2 に示すように各ヒドロキシ酸単位の末端メチルプロトンのシグナルの積分を用いて行った。

③. 有機物摂取にともなう汚泥内貯蔵糖の消費

表1に示したように、酢酸およびプロピオン酸の摂取にともない汚泥内の貯蔵糖が消費された。酢酸・およびプロピオン酸をPHAとして蓄積するためには還元力が必要である。酢酸の場合については、この還元力が解糖により供給されることが明らかになっている(Minoら)。実験結果を解析すると、除去基質6 molにたいして糖の消費は約1.1~1.2molとなった。

以上のことから図3のモデルを提案する。

まとめ

嫌気好気汚泥は酢酸やプロピオン酸をPHAとして貯蔵する。基質をPHAに変換する際には汚泥内貯蔵糖が重要な役割を果たす。

また今日PHAは生物分解性プラスチックとして注目されているが、今回同定された3H2MVを含むPHAはこれまで報告されたことのない新しいものであることを付け加えておく。

今後の課題

NMRによるPHAの分析はサンプルが多量に必要であり、ルーチンで用いる方法としてあまり優れていない。現在PHAを菌体ごとメチル化分解してPHAを定量する方法について検討をしている。

謝辭

PHAの同定に協力していただいた、東京工業大学資源化学研究所の土肥義治先生に、ここに謝意を表します。

参考文献

Doi, Y., Kunioka, M., Nakamura, Y., Soga, K. (1986)
Nuclear Magnetic Resonance Studies on Poly(β -
hydroxybutyrate) and a Copolyester of β -
hydroxybutyrate and β -hydroxyvalerate Iso-
lated from *Alcaligenes eutrophus* H16. *Macromol*

Arun, V., Mino, T., Matsuo, T. (1988) Biological Mechanisms of Acetate Uptake by Carbohydrate Consumption in Excess Phosphorus Removal Systems. Wat. Res. Vol. 22, No. 5, pp565-570.

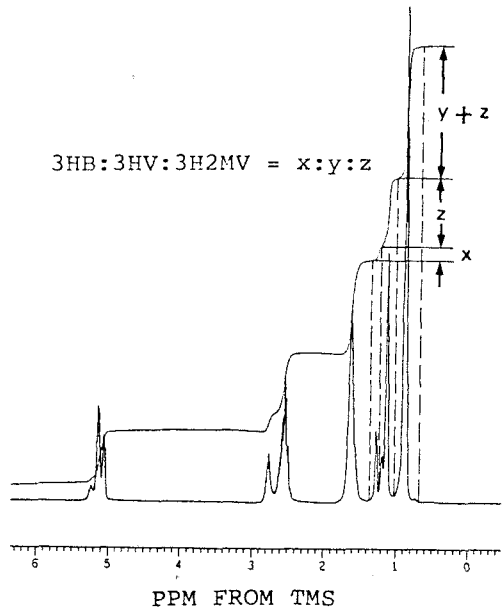


図2. $^1\text{H NMR}$ によるPHAの組成決定

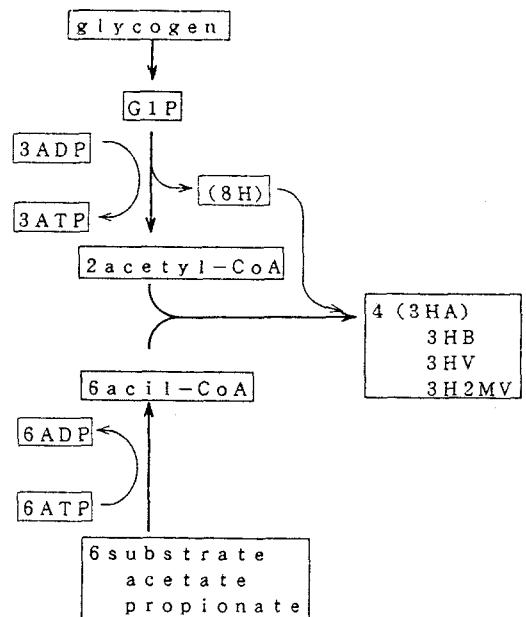


図3. 酢酸およびプロピオン酸の代謝モデル