

PACを用いた凝集沈殿処理後に残留する藻類由来有機物の構造と存在形態の評価

東北大学大学院工学研究科 学生員 ○高荒智子
 東北大学大学院工学研究科 鈴木孝佳
 東北大学大学院工学研究科 正会員 佐野大輔
 東北大学大学院工学研究科 正会員 大村達夫

1. はじめに

我が国の浄水場では藻類が原因で発生する処理障害が数多く報告されている．中でも藻類由来有機物（AOM：Algogenic Organic Matter）は，凝集剤成分と錯体を形成し，凝集処理効率を低下させることで知られている．凝集阻害対策は凝集剤の注入率を増加させる方法が長年に渡って採用されており，凝集阻害問題に対する抜本的解決は未だ見られないことから，今後新たな凝集阻害対策が必要であると考えられる．

以上の様な背景から本研究では，AOMによる凝集阻害メカニズムを解明し，新たな凝集阻害対策の提案を目標としている．AOM成分で凝集沈殿処理されずに残留する物質は，凝集剤とAOMが錯体を形成した物質，および凝集剤と結合を示さないAOM成分から成っている．そこで本実験では，藍藻類 *Microcystis aeruginosa* 由来の細胞内有機物（IOM：Intracellular Organic Matter）に着目し，凝集沈殿処理後，残留した雑多なIOM成分から凝集阻害関与物質を取り出すためにアフィニティークロマトグラフィによる錯体形成実験を行い，分離された物質について定性的な分析を行った．

2. 実験方法

実験フローチャートを図-1に示す．

2-1 凝集実験の試料作成，及び方法

純粋培養した *Microcystis aeruginosa* (NISE-91)（MA培地，25℃，4000lux，12hr明暗，振とう培養）を0.45μmメンブレンフィルターでろ過し，フィルター上に

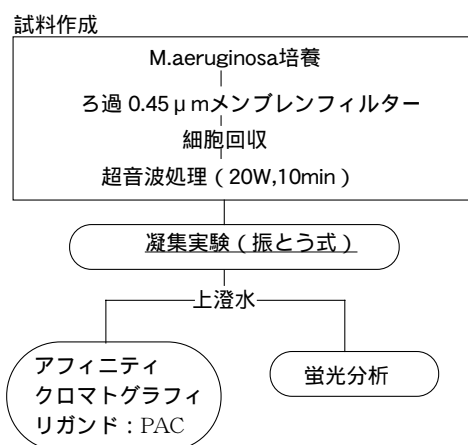


図-1 実験フローチャート．

留まった細胞をリン酸バッファーで洗浄することで細胞を回収した．回収した細胞に対して超音波処理（20W，10分）を施しIOM試料を得た．凝集実験を行う原水（200mL）は，IOM試料に水道水を加え，水道水に対するIOM試料の体積比が1/300，1/100になるよう調整した2種類の原水を作成し，それぞれS1及びS2とした．また，コントロール実験として水道水のみを用いた原水をS0とした．各々にカオリンを加え濁度20度に調整した．pHは0.1N HCl 或いは0.1N NaOHでpH7付近に調整した．凝集剤はPACを使用し，凝集剤注入率は濁度20度における最適注入率である10mg/L-Alとした．実験は振とう式凝集実験により行った．急速攪拌（80rpm 2min），緩速攪拌（65rpm 15min）の操作後，20分間静置し上澄水100mLを回収した．残留有機物の定性的評価を行うため，凝集実験原水，および上澄水における蛍光測定を行った．

2-1 アフィニティークロマトグラフィ

S1における凝集後上澄水中で，アルミニウムと錯体を形成した形で残留しているIOMを分離するためにアフィニティークロマトグラフィを行った．Hitrap chelating-5ml（Amersham Biosciences）にPACをカップリングさせ，凝集後上澄水を50ml導入した．開始バッファーは0.5M NaClを含む20mMリン酸バッファー（pH7.2），溶出バッファーは，開始バッファーの内容に0.05M EDTAを加えたものである．pHはいずれもpH7.2に調整した．平衡化，サンプル注入（50ml），洗浄，溶出の順に操作し，カラム出口で排水を回収した．回収した排水に対してE280を測定した．

3 結果と考察

3-1 ジャーテストの結果と考察

図-2に各EOM濃度に対する濁度除去率を示した．S0において97.7%の除去率を示したのに対し，S1では83.1%，S2では44.1%となり原水中のIOM濃度の増加に伴って濁度除去率は低下した．IOMと，PACとが錯体を形成し強固に結合することによって，PACの凝集能力が低下し，カオリンの除去率を低くしたものと考えられる．

図-3には，S2原水に対する凝集実験前後の三次元蛍光マトリクスの結果を示した．蛍光強度はMilliQ水をブランク値として差し引いた値である．凝集実験前後で，蛍光強度の大小合わせて6つのピークを確認した．出現ピーク

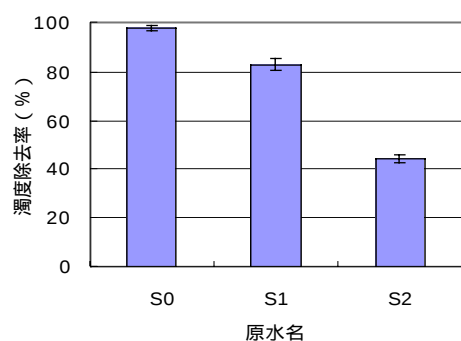


図-2 濁度除去率.

を表-1 にまとめた．コントロールである S0 についてはこれら 6 つのピークは見られなかった．また，S2 原水の実験前後で、ピークの出現位置は殆ど変わらずに蛍光強度のみが変化していることから，試料中に見られる 6 つのピークは IOM 由来であることが確認でき，実験後の上澄水には S2 中の IOM 成分が凝集処理されずに残留したと考えられた．*Microcystis* が産出した試料を蛍光分析した研究で，AOM 特有と見られる励起波長 230nm，蛍光波長 430nm 付近のピークが報告されている¹⁾ が本研究では確認されなかった．藻類培養条件（水温、栄養塩濃度等）の違いが *Microcystis* の遺伝子発現の差異をもたらしたものと考えられる．

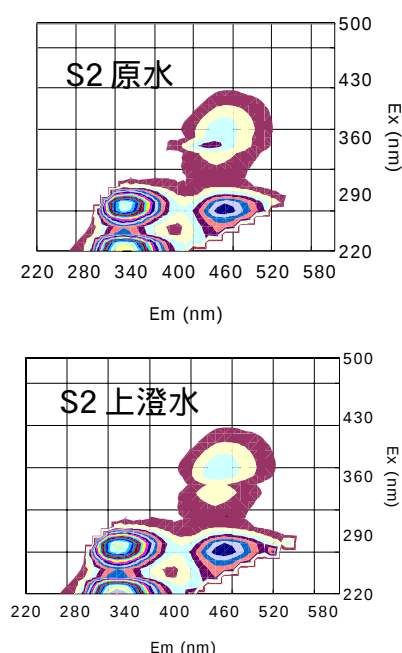


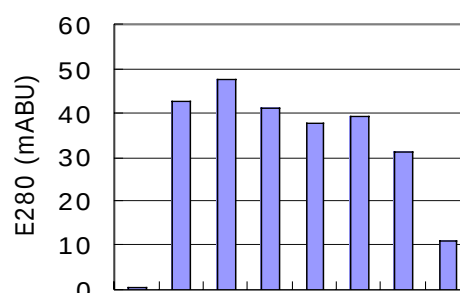
図-3 凝集処理前後における三次元マトリクス結果．

表-1 凝集処理前後における三次元蛍光マトリクスの出現ピーク位置．

	ピーク1	ピーク2	ピーク3	ピーク4	ピーク5	ピーク6
励起波長 (nm)	220	250	270	270	350	370
蛍光波長 (nm)	340	400	340	480	440	460

3-2 アフィニティクロマトグラフィ結果

図-4 にアフィニティクロマトグラフィにおいて得られた各フラクションの E280 を示す(サンプル S2 の凝集処理後における上澄水)．図-4 の結果より，サンプル注入後カラム担体にカップリングした PAC と結合しない 280nm 吸光成分が高く検出されていることから，3-1 で上澄水に残留すると確認された E280 成分は，PAC と結合せずに有機物そのものが残留しやすい特徴を持つことが考えられる．また溶出操作後，微少な吸光を示す物質が確認された．これらの物質として IOM 中のタンパク質等が考えられ，アルミニウムと強固に結合することで，凝集剤の処理効率を低下させ，凝集阻害を引き起こしているものと考えられる．



フラクション

図-4 アフィニティクロマトグラフィにおける各フラクションの吸光度 (280nm) サンプル: W₁₀₀ の凝集処理後における上澄水．

[: 平衡化、 : サンプル注入 1、 : サンプル注入 2、 : サンプル注入 3、 : サンプル注入 4、 : サンプル注入 5、 : 洗浄、 : 溶出]

4 まとめ

1. PAC を用いた凝集実験により，原水中の EOM 体積率が増加するに従い，濁度除去率が減少した．
2. S2 に対する 3 次元蛍光マトリクスより，EOM 成分の殆どが凝集処理後の上澄水に残留することが示唆された．
3. PAC をリガンドに用いたアフィニティクロマトグラフィの結果から，上澄水に残留している E280 成分は凝集剤と結合せずに単独で残留しているものが多いが，凝集阻害に関与すると思われる物質は，強固にアルミニウムと錯体を形成することで，凝集阻害に関与しているものと考えられた．

参考文献

- 1) 小松一弘、中島典之、古米弘明 (2002) 低塩濃度条件下における *Microcystis aeruginosa* 産生有機物の SUVA 及び励起蛍光マトリクスによる特性評価、水環境学会誌、Vol. 25, No. 12、pp. 43-49