

Microcystis spp.由来莢膜成分の凝集阻害誘引物質としての検討

東北大学大学院 学生会員 ○今江泰貴
 佐藤有一
 石藤慎吾
 正会員 高橋真司
 正会員 真砂佳史
 正会員 大村達夫

1 はじめに

我が国では安定した水供給を目的とし、ダム・湖沼などの閉鎖性水域を水源として利用している。しかし、閉鎖性水域では栄養塩類が停滞し、富栄養化になりやすい。そして、それに伴う藻類の季節的大繁殖が発生し、浄水処理システムでしばしば問題となっている。凝集プロセスにおいては、本来、凝集剤中カチオンが表面電荷の中和作用及び架橋作用により懸濁粒子のフロックを形成させるが、増殖した藻類の影響によりこの2つの作用が妨げられ、良好なフロック形成が妨害される。これを凝集阻害と呼び、凝集阻害を引き起こす要因として藻類由来有機物が検討されている¹⁾。このように凝集阻害は浄水処理システムの凝集プロセスにおける処理効率を低下させるが、その後のろ過処理や塩素処理を行う際の目づまりやトリハロメタンの生成にも影響する。そのため、凝集阻害はシステム全体の処理効率の低下を招くといえる。しかし、検討されている凝集阻害誘引物質の特定には至っていないため、凝集阻害への効果的な対策は講じられていない。

凝集阻害誘引物質としてこれまで、細胞の死滅に伴う細胞破壊により放出される細胞内有機物や代謝活動などにより細胞外へ放出される細胞外有機物、そして細胞表面に存在する細胞表面保持有機物などが検討されてきた¹⁾。本研究では、細胞の最外表面に存在しているため、凝集剤と直接反応している可能性が高いと考えられる、莢膜を凝集阻害誘引物質として検討した。莢膜は細胞を覆う粘性物質であるが、その役割としては、群体の維持、ウイルスや細菌の攻撃に対するレセプターなどが考えられている²⁾。凝集阻害の原因藻類の代表種である藍藻類 *Microcystis* は自然界中では莢膜を産生し、群体として存在している。しかし、藻類の莢膜は実験室培養では殆どの場合産生されないとされているため、*Microcystis* の莢膜に関する知見は少ない。

本研究では凝集阻害誘引物質としての莢膜を検討するため、自然水中より *Microcystis* 群体および藻体より莢膜成分を分離および回収し、その後、莢膜成分の化学組成分析を行った。また、莢膜成分の凝集阻害能を評価するため、莢膜の存在する藻体と除去後の藻体での凝集試験により、莢膜の有無による藻体の凝集性を比較した。続いて実際の凝集処理を行う際、莢膜成分が懸濁粒子に与える影響を凝集試験により評価した。

2 実験方法

2.1 *Microcystis* 群体試料の回収

2008年9月10日、アオコの発生している千葉県印旛沼を水源とする柏井浄水場取水口の表層水をポリバケツにより採水した。続いて、採水試料1Lを遠心分離(500×g, 10 min)し、夾雑物を除去した上清を回収した。その後、回収した上清の遠心分離(8,000×g, 10 min)後に得られたペレットの顕微鏡観察を行い、ペレットに含まれる藻体の9割以上が *Microcystis* であることを確認したため、ペレットを *Microcystis* 群体試料とした。

2.2 莢膜成分の分離

本研究では、雨宮ら²⁾、中川ら³⁾の用いた手法を参考とし、顕微鏡観察による検討の後、分離方法を決定した。はじめに、*Microcystis* 群体試料を超純水に懸濁させ、1Lの藻体懸濁水を作製した。続いて、藻体懸濁水を2分間 vortex することにより、群体を破壊した。その後一晩4°Cで静置し、藻体より莢膜成分を超純水に溶出させた。そして、藻体懸濁水を遠心分離(8,000×g, 10 min)することにより、莢膜成分を除去した藻体と莢膜成分をそれぞれペレットと上清に分離し、回収した。回収した莢膜試料は、0.45 μm メンブレンフィルター (ADVANTEC) を用いて濾過し、夾雑物の除去を行った。その後、ロータリーエバポレーターおよび凍結乾燥機による濃縮を行い、乾燥莢膜試料を得た。

2.3 莢膜成分の化学組成分析

莢膜成分の組成分析は次のように行った。糖質はフェノール-硫酸法、タンパク質はDc Protein Assayキット (BIO-RAD) を用いたLowry法により測定した。また、脂質はLab AssayTM Triglyceride kit (Wako) で測定し、金属量は70% 硝酸 (関東化学) を用いて莢膜中の有機物の分解後、ICP-MS (Agilent 4500 ICP-MS, Agilent Technologies) で測定した。金属量に関しては、莢膜の金属濃縮の度合いを調べるため、採水試料を0.45 μm メンブレンフィルター (ADVANTEC) を用いて濾過した試料を同様に測定した。

2.4 凝集阻害能評価の手順

凝集阻害能は凝集剤としてポリ塩化アルミニウム (Polyaluminum chloride : PAC, 大和薬品) を用いた凝集試験により評価した。凝集試験に使用する試験水はアルカリ度 50度となるよう100 g/L 炭酸水素ナトリウム (関東化学) を、pH 7.00±0.05となるよう1 M 水酸化ナトリウム (関東化学) または1 M 塩酸 (関東化学)

キーワード：凝集阻害, *Microcystis*, 莢膜

連絡先：〒980-8579 宮城県仙台市青葉区荒巻字青葉 6-6-06, TEL : 022-795-7483, E-mail : imae@water.civil.tohoku.ac.jp

を用いて調整した。凝集条件は、急速攪拌 (100 rpm, 2 min) の後、緩速攪拌 (50 rpm, 15 min), 静置 (10 min) を行った。凝集試験後、上澄水の波長 660 nm の吸光度 (A_{660}) を分光光度計により測定し、濁度を算定した。

2.5 莢膜成分の有無による藻体の凝集性の比較

莢膜成分の凝集阻害能は、藻体試料を用いた凝集試験により評価した。2.1 及び 2.2 で得た莢膜成分の存在する藻体試料と存在しない藻体試料を、細胞数を 4.6×10^7 cell/L (濁度約40度) となるよう精製水にそれぞれ加え、アルカリ度及び pH を調整後、これを試験水とした。続いて、作製した試験水を用い、PAC濃度0-20 mg/Lの条件で凝集試験を行い、処理後の濁度が5度以下となるPAC濃度を算出した。

2.6 莢膜成分による懸濁粒子の凝集阻害能評価

莢膜成分による懸濁粒子の凝集阻害能は、カオリンを懸濁粒子として用いた凝集試験により評価した。まず、精製水にカオリンを40 mg/L となるように加え、アルカリ度及び pH を調整し、これを処理原水とした。続いて、処理原水に0.0-6.4 mg-C/L の濃度となるよう莢膜試料を添加し、試験水を作製した。その後、試験水を用いてPAC濃度18 mg/Lの条件で凝集試験を行い、処理後の濁度が5度以上となる莢膜試料添加率を求めた。

3 結果及び考察

3.1 莢膜成分の化学組成

莢膜成分の化学組成 (乾燥重量比) を測定した結果、莢膜成分には糖質が 57 % と割合の半数以上をしめ、次いでタンパク質が 13 % と多く含まれていた。脂質は 4.9 % と少ない含有率であった。また、金属が 8.6 % 含まれていたことより、莢膜中の有機物は金属濃縮および吸着能を有する可能性が考えられた。

確認された金属種のうち主なものを表1に示した。表1の莢膜中および原水中に含まれる金属の存在量を比較すると、Al および Zn に関しては原水中の存在量を上回っていることが確認された。雨宮らの研究²⁾ではAlは検出されていないが、本研究ではAlの濃縮が確認された。すなわち、莢膜成分が金属吸着および濃縮能を有し、凝集剤 PAC に含まれる Al と反応することによる凝集剤消費量を増加させ、凝集阻害を引き起こす要因となることが示唆された。

3.2 莢膜成分の有無による藻体の凝集阻害能の比較

莢膜成分の凝集阻害能を確認するため、莢膜の存在する藻体試料と除去した藻体試料で凝集試験を行った。その結果、それぞれ 11, 6.0 mg/L の PAC 注入率で濁度が 5 度以下となると算出され (図 1), PAC 濃度の差は 5.3 mg/L となった。2 種類の藻体試料の相違が莢膜の有無のみによるものであると考えると、算出された PAC 濃度の差は莢膜の影響によるものと考えられる。以上より、莢膜の凝集阻害への寄与が考えられた。

3.3 莢膜成分の凝集阻害能評価

莢膜成分が 3.6 mg-C/L 以上の含有率の際に濁度 5 度以上となることが示された (図 2)。この際、形成されたフロックは繊維状で、水中に分散していた。また、

表 1. 原水 1L あたりの莢膜中金属量及び原水中金属量

	莢膜 (mg/L)	原水 (mg/L)
B	0.033	0.050
Na	0.25	9.8
Mg	0.23	3.8
Al	0.017	0.013
K	0.073	1.7
Ca	0.70	15
Mn	0.012	0.22
Zn	0.15	0.12

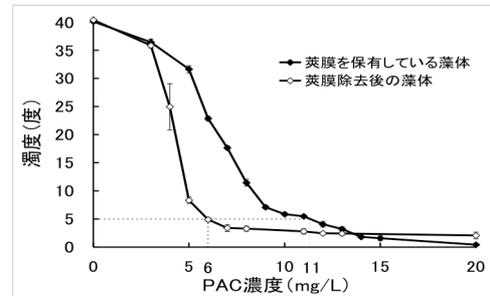


図 1. 莢膜の有無による藻体の凝集性の比較

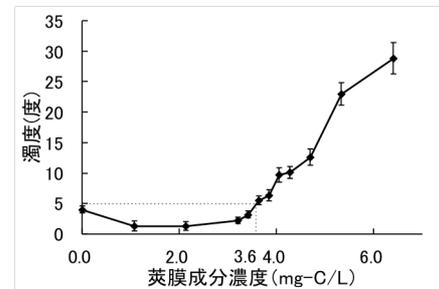


図 2. 莢膜による懸濁物質の凝集阻害能評価

莢膜成分の含有率が 1.1-2.1 mg-C/L であるとき、カオリンのみの場合よりも良好なフロックが形成された。このため、莢膜成分は低濃度では助剤的性質を示すことが示唆された。この性質は細胞外有機物の性質と類似したものであり⁴⁾、莢膜成分中には細胞外有機物に含まれる物質と類似した物質を有していると考えられた。

4 まとめ

本研究では、採水試料より回収した *Microcystis* 群体より莢膜成分を分離した。回収した莢膜成分の組成割合 (乾燥重量比) は糖質が半分以上を占め、次いでタンパク質が多く含まれていた。金属量に関しては、金属種別の存在量を調べたところ、莢膜の金属濃縮および吸着能が示唆された。そのため、凝集剤中カチオンと反応することにより、凝集剤を多く消費し、凝集阻害を引き起こしている可能性が考えられた。また、莢膜の存在する藻体試料と除去した藻体試料での凝集試験より、莢膜が凝集阻害に寄与している可能性が示唆された。そして、回収した莢膜とカオリンとの凝集試験より、莢膜成分中には低濃度で凝集を促進する、細胞外有機物含有の物質に類似した物質を有していると考えられた。

参考文献

- 1) 佐藤敦久ら, 上水道における藻類障害, 技報堂出版, 1996.
- 2) 雨宮由美子ら, 日本陸水学会雑誌, **45** (3), 187-193, 1984.
- 3) Nakagawa, M., et al., Agric. Biol. Chem., **51** (2), 329-337, 1987.
- 4) 菅原繁ら, 水道協会雑誌, **66** (8), pp9-18, 1997.