

電気応答性PVA-PAAゲル固定化菌体を用いた脱窒システムの検討

九州大学大学院 学生員 ○上原博志
九州大学工学部 正会員 久場隆広、楠田哲也
九州大学工学研究科 入江正浩

1. 目的 現在、微生物を高分子物質（ゲル）で包み込んだ包括固定化菌体は食品・医療品製造、化学品の製造、分析技術開発など様々な分野で研究されている。排水処理分野においても処理の効率化・コンパクト化・余剰汚泥の減量化等を可能にする方法としてその有効性が指摘されている。本研究では、電気印加により膨潤収縮・屈曲を行う電気応答性ゲルを脱窒菌の固定化担体として用い、ゲルの電気応答性と強度に関する考察を通して適切なゲル組成を決定し、更に固定化担体内部への基質浸透を増加させることを試みた。電気印加による脱窒活性の促進効果についても検討を行った。

2. PVA-PAAゲルの物性に関する考察

2.1 PVA-PAAゲル作製法 本実験においては、ポリビニルアルコール（PVA）ゲルの代表的な作製法である冷凍解凍法を使用した。まず、PVAを蒸留水中で、120℃、約3時間加熱しPVA水溶液を作製する。この溶液にポリアクリル酸（PAA）を混合し、一様のPVA-PAA水溶液を得る。これを3mmφのガラス管に固定し、作製した水溶液を3回凍結解凍することでゲル化させる。凍結は約-20℃の冷凍庫で24時間行い、解凍は室温で行う。こうして得られたゲルを1NのHCl、蒸留水、1NのKOH、蒸留水の順で繰り返し洗浄し（アニーリング）、最後に純水中でよく洗浄して電気応答性PVA-PAAゲルとする。¹⁾

2.2 電気応答性に関する考察 実験に用いたPVA-PAAゲルは代表的な電気応答性ゲルであり、電気印加することで陽極側が膨潤、陰極側が収縮するため屈曲する。Fig.1に示す装置を用い、電気応答性を調べた。測定装置の大きさは50×40×70mmであり、電極間は50mm、白金電極の大きさは10×70×1mmである。測定装置をN/15リン酸緩衝液（N/15KH₂PO₄-N/15Na₂HPO₄混合液）で満たし、電極間の中心にPVAゲルを吊して測定を行った。印加電流を200mAに設定した。測定は温度25℃、pH7.0の条件で行った。ゲル先端の水平移動距離（L）を測定し、ゲル長（L₀）で無次元化したL/L₀で応答性を評価した。PAA濃度を変化させて測定したPVA-PAAゲル（PVA濃度10%）の電気応答経時変化をFig.2に示す。またPAA濃度と応答時間（四半円状（L/L₀=0.625）に達するまでの時間）の関係をFig.3に示す。実験結果からPAA濃度を大きくすると、電気応答速度が速くなることがわかった。

2.3 強度に関する考察 作製したPVA-PAAゲルの強度を水膨潤率から考察する。N/15リン酸緩衝液（pH7）中でゲルを約1日保存し、その湿潤質量（W）を量った。その後、60℃で3時間ゲルを乾燥し、その乾燥質量（W₀）を量った。このようにして求めた湿潤質量と乾燥質量から水膨潤率W/W₀を算出した。PAA濃度と水膨潤率の関係をFig.4に示す。定性的であるが、W/W₀が100を越えるゲルは非常に脆く、強度的な問題が生じた。

2.4 最適固定化担体の選択 PAA濃度と応答性、強度の関係から、PAA濃度が高くなるにつれて電気応答速度が速くなる反面、水膨潤率の急激な上昇によりゲル強度が低下する様子が観察された。これらの結果からPVA濃度10%、PAA濃度0.6mmol/g-gel程度のゲルが、固定化担体として本実験においては最適であった。

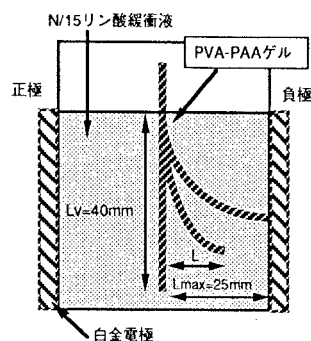


Fig.1 電気応答性測定装置

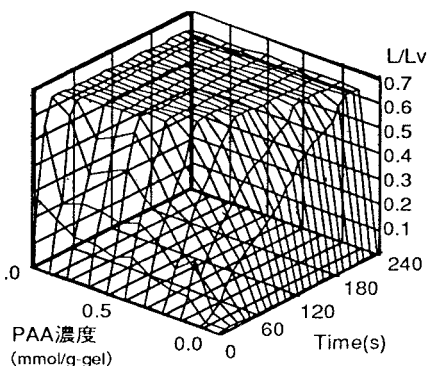


Fig.2 PVA-PAA電気応答経時変化（PVA濃度10%）

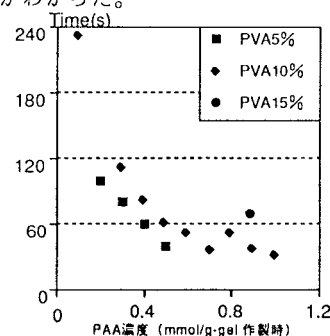


Fig.3 PAA濃度と応答時間の関係

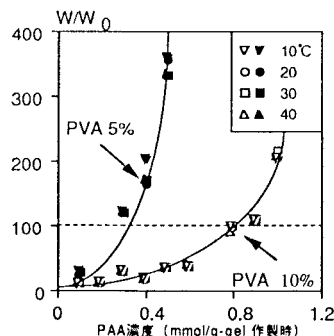


Fig.4 PAA濃度と水膨潤率の関係

3. 電気応答性PVA-PAAゲル固定化微生物の脱窒活性に関する考察

3.1 微生物固定化担体作製法 前述のPVA-PAA水溶液に遠心分離（3000rpm、 $r=10\text{cm}$ 、3分間）した活性汚泥を混入することで微生物固定化担体を作製した。厚さ3mmの型枠内でPVA-PAA水溶液をゲル化した後、そのプレート状ゲルを短冊状に切断、成型した。この際、微生物への影響を考慮し冷凍解凍回数を1回とした。このようにして作製した微生物固定化担体をアニーリングし、活性測定実験に供した。また、物性測定実験の結果から、固定化担体としてはPVA10%、PAA0.6mmol/g-gelゲルを用いた。

3.2 脱窒活性測定実験条件 脱窒活性測定実験を電気印加と未印加、また、ゲルとしてPVAとPVA-PAAを用いた4条件下で行った。反応槽は液相500ml・気相250mlとし、嫌気状態を保つため気相は N_2 ガスまたはArガスで置換した。ゲルは液相部に57ml（ゲル添加率11%、初期微生物濃度2300mg-VSS/l-reactor程度）充填した。1日1回、硝酸及び酢酸を含む基質を投入するFill&Draw方式で反応槽を運転した。電気印加を行う反応槽には、白金電極（100×100mm）を内面に設置し、電極間を50mmとした。その際1分毎に正極・負極を反転させた。以上の条件で実験を行い、PAAによる影響、電気印加による効果及び屈曲による効果を明らかにすることを試みた。電流を印加せず8週間培養した後の固定化微生物の脱窒活性測定結果をFig.5に、電流密度0.1mA/cm²で3週間、1.0mA/cm²で5週間培養した後の固定化微生物の脱窒活性測定結果をFig.6に示す。

3.3 PAAの毒性に関する考察

Fig.5に示したグラフから、PVAゲルに比べ、PVA-PAAゲルの脱窒活性は若干劣っていることがわかる。これはPAAの毒性による影響や解離基等の違いによる基質拡散速度の違いによるものと考えられる。

3.4 電気印加活性促進効果に関する考察

Fig.5及び6に示したPVAゲルに関する結果から、電気印加により脱窒活性が低下し、中間体としての亜硝酸が減少しにくくなることがわかった。これは電場の及ぼす微生物への影響によるものと考えられる。今回このような結果が得られたが、適当な電場においては微生物の活性が増加することが確認されている。²⁾ また、今回の実験においては、電極反応による酸素と水素に加え他のガス発生も予想され、その影響も考慮する必要があると考えられる。

3.5 屈曲による活性促進効果に関する考察

Fig.6に示したグラフから、電気を印加した場合、電気応答性を有するPVA-PAAゲルの方が、応答性を有していないPVAゲルに比べ脱窒活性において若干優れている。これは、PVA-PAAゲルの電気応答性により僅かながらゲルが屈曲運動し、ゲル内への基質流入が促進されたためと考えられる。

4.まとめ 本実験において、固定化担体として用いる電気応答性PVA-PAAゲルの物性を明らかにし、固定化担体として用いるのに適切な組成を見出すことが出来た。その組成で作製したゲルに活性汚泥を固定することで、応答性に優れ強度も十分な微生物固定化担体を作製し、脱窒活性測定実験を行った。その結果からPAAの毒性による影響、電気印加による効果、電気応答性による効果等について考察した。今後、PVA-PAAゲルの屈曲作用により、どの程度基質拡散が向上したかを定量的に検討し、更に電極で発生する気体の微生物活性に与える影響についても考察を行う予定である。

[参考文献]

- 1) T.Kurauchi, T.Shiga, Y.Hirose and A.Okada, "Deformation Behaviors of Polymer Gels in Electric Field", Polymer Gels, edited by D.DeRossi et al, Plenum Press, New York, pp.237-246, 1991.
- 2) 北村博信、関根宏：電気刺激を付加した微生物処理効果の検討、日大生産工学部学術講演会1995-12

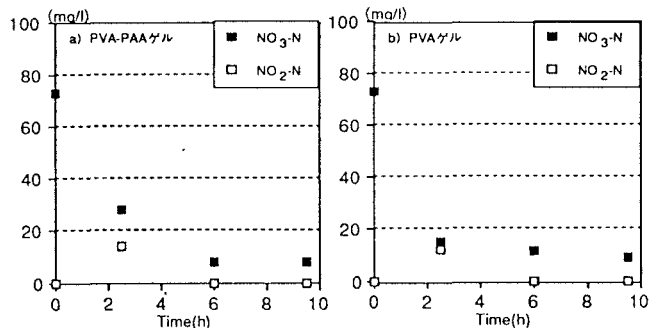


Fig.5 固定化微生物による脱窒活性（電流未印加）

右：PVA-PAAゲル
左：PVAゲル

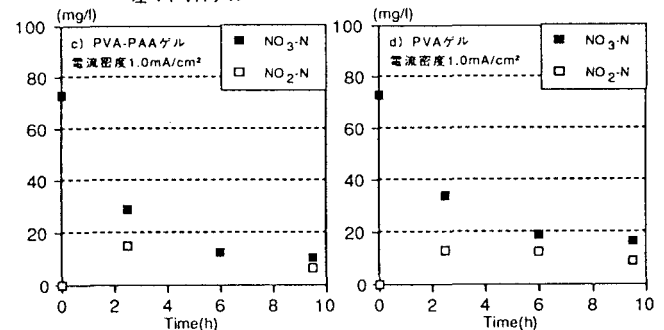


Fig.6 固定化微生物による電気印加脱窒活性

右：電気印加（電流密度1.0mA/cm²）PVA-PAAゲル
左：電気印加（電流密度1.0mA/cm²）PVAゲル