

生物学的リン除去法における微生物相の動態について

九州東海大学工学部 学生会員 貞森 隆晴 正 会 員 金子 好雄
学生会員 真名井 博 学生会員 三枝 雄策

1. はじめに

活性汚泥をはじめとする生物排水処理システムの性能向上、最適な維持管理を行うには、微生物の状態が処理環境によってどのように変化するかを把握することが必要である。しかし、微生物の状態を把握するために、多種多様の微生物を、個々に分離、同定して解析する事は大変難しい。

そこで、生物学的リン除去法における微生物相の動態を把握するため嫌気好気法で運転している活性汚泥のキノンプロファイルを測定した。

2. 分析方法

キノンプロファイルを測定するための試料はSBR実験装置を用いて室内で嫌気好気法で運転している活性汚泥を使用した。ここでは、嫌気過程3時間、好気過程4時間で運転しているSBRの実験、RUN 1～3を行った時の活性汚泥のキノンプロファイルを測定した。

活性汚泥を湿潤重量で約5g取り50 mM リン酸緩衝液で洗浄、遠心分離後、リン酸緩衝液とクロロホルム/メタノール液(2:1, v/v)を加え、超音波処理を行い、遠心分離後上澄みのメタノールを捨てクロロホルム液を回収し残った試料をクロロホルム/メタノール液で浸透抽出し、ろ過後、ろ液と上澄み液を合わせてロータリーエバポレーターで減圧濃縮を行う。濃縮液を遠心管に移し、その際フラスコ内に残っている試料をヘキサン5mlで流し出し、水5mlを加えよく振り、静置後上澄み液を回収する。これを約3回繰り返す。

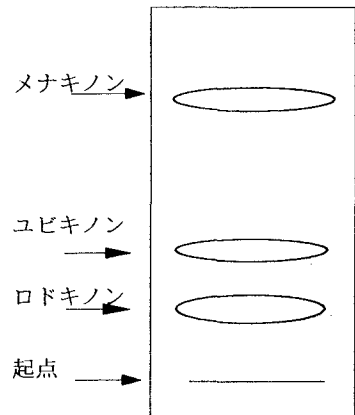
回収した液を再度ロータリーエバポレーターで減圧濃縮する。濃縮液を回収後、40mlヘキサン/ジエチルエーテル(9:1, v/v)を加えアルミナカラムで溶出する。溶出後エバポレーターで減圧濃縮後、少量のアセトンに溶かす。TLCで精製する。ヘキサン/ジエチルエーテル(3:2, v/v)で展開するとRf値0.7付近にメナキノ、0.3付近にユビキノンが出現する。

各キノンをプレートからかき取りエタノールで溶出し高速クロマトグラフィー(HPLC)で測定する。

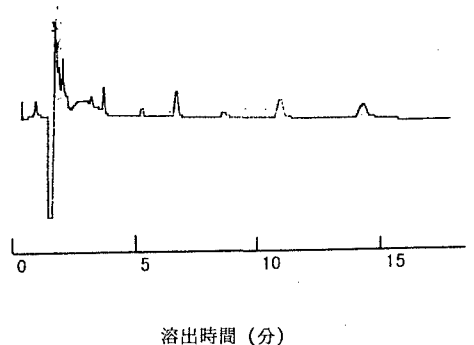
HPLCの各波長はメナキノンが270nm、ユビキノンが275nm、島津LC9-A、STR ODS-IIカラム(粒子径5μm、最孔径:120Å)移動相メタノール/イソプロピルエーテル(3:1, v/v)、カラム温度25℃、流速1ml/分

3. 結果・考察

図一1、4はRUN 1のキノンクロマトグラフとSBR内のリン濃度の経時変化である。ユビキノンと思われる物質は、はっきりとは確認ができなかったが、メナキノンと思われる物質のピークが、10.65min、12.07min、15.81minに計測された。この時のリンの除去は良好であった。



TLCによる分離、展開
展開液、ヘキサン/ジエチルエーテル(3:2, v/v)



図一1、RUN 1:加トグラフ、メナキノ

図-2、5はRUN 2のキノクロマトグラフとリン濃度の経時変化である。No. 9、No.10、No.11 にユビキノンのピークが現れた。この内、No.11 は、Q-10 と同定された。図-2 よりメナキノンは No.13 でピークが現れている。この時の SBR 内のリンの挙動は嫌気過程でリン放出量も少なく、好気過程での過剰摂取も起こっていなかった。

図-3、6はRUN 3のキノクロマトグラフとリン濃度の経時変化を現している。ユビキノクロマトグラフで No. 7 (4.08)、No. 9: (7.12)、No. 10: (7.94)、No. 11: (10.33) にピークが検出された。No.11 はQ-10であった。分布比率は、No. 7 > No. 10 > No. 11 > (その他の物質)であった。メナキノンは、ピークタイム約 10 分の時に微小だがピークがあった。この時は RUN 1 同様リン除去は良好に行われている。

以上のような結果から実験RUN 1、3の活性汚泥はリンを除去しているが、リン除去が多く行われている RUN 1はメナキノンの波形が多くでているが、RUN 3のメナキノンはRUN 1より出現数が少ない。ユビキノンはRUN 3では、はっきりと現れている。リン除去が不良の、RUN 2の試料はユビキノン、メナキノンの両方ともクロマトグラフに多くは出現しなかった。RUN 1の試料では TLC に展開とメナキノンの下に、紫色のロドキノンははっきりと出現していた。

4. まとめ

リン除去が良好な活性汚泥はメナキノンの種類が多く検出される傾向がみられた。今後は様々な処理状況下のキノプロファイルを明らかにすることが必要と考える。

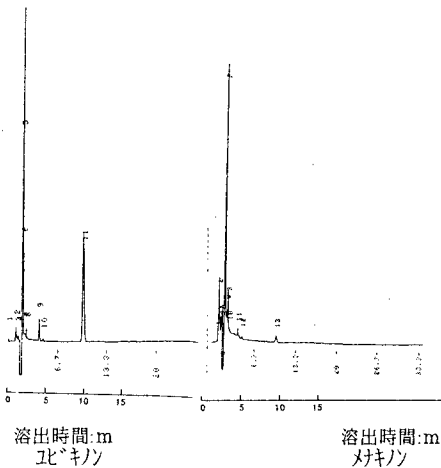


図-2 RUN 2、加マグラフ

参考文献

平石明：キノプロファイル法による活性汚泥細菌の生態学研究

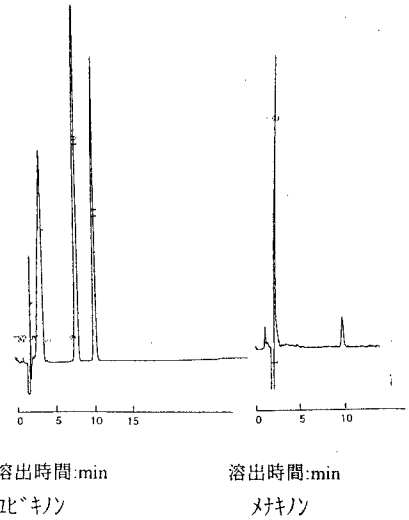


図-3 RUN 3、加マグラフ

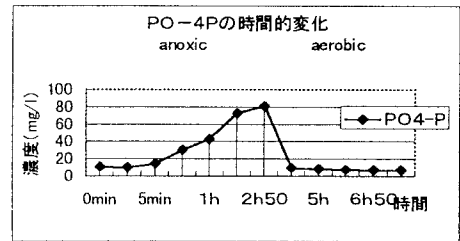


図-4 UN 1のリンの時間的変化

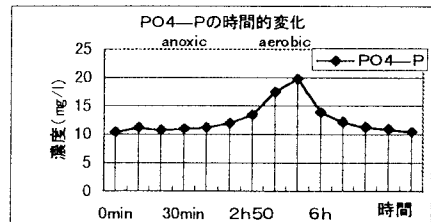


図-5 RUN 2リンの時間的変化

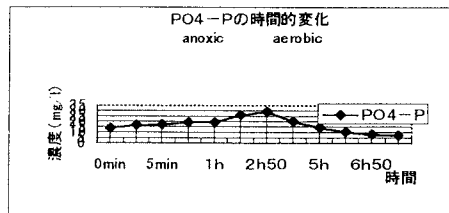


図-6 RUN 3のリンの時間的変化