

嫌気性消化における高級脂肪酸の阻害特性

東北大工学部 ○ 緒 春鳳

東北大工学部 宮原高志

東北大工学部 野池達也

1. はじめに

廃水中の有機物は主にタンパク質、炭水化物、脂質に分類できる。脂質が有機物の嫌気性分解に対し阻害性を有していることや、UASB法におけるグラニュール汚泥の沈降性の悪化を引き起こすなどが挙げられる。阻害原因として最近注目を集めている考え方は細菌とその細菌が存在する生物細胞あるいは物体表面の間に強い親和性があり、このことが該当部位における細菌叢を規定しているという仮説である。従って、細菌の疎水性と高級脂肪酸による細菌の分解速度への阻害性には相互関係があると推定できる。このような認識に基づき、本研究では嫌気性処理における有機物分解の各段階に関与する細菌群の違いに焦点を当て、高級脂肪酸の阻害性および高級脂肪酸の細菌群に対する阻害性と細菌群の疎水性との関係について検討を行った。

2. 実験装置および実験方法

本研究では回分実験を用いた。基質は廃水中の主要有機物の代表としてセルロース、グルコース及びゼラチンを用いた。嫌気性処理の代謝産物として酢酸とプロピオン酸を用いた。パルミチン酸ナトリウムを高級脂肪酸の代表物質として実験を行った。実験装置として、120mlのバイアル瓶を35°Cの振盪培養器（毎分約72往復）に設置したものである。通常、菌体量の指標にはMLVSSが用いられるが、高級脂肪酸のように菌体に付着することなどにより汚泥部分に移行する有機物が存在する場合は適当でない。このため本研究ではタンパク質の値を菌体量の指標として用いた。

3. 結果

阻害剤であるパルミチン酸を添加しないときの初期基質分解速度に対する添加時の初期基質分解速度の比率を相対分解活性（ACT）と定義した。相対分解活性（ACT）が50%減少した時の高級脂肪酸濃度をMIC₅₀と定義した。MIC₅₀は阻害の強さを表し、MIC₅₀が小さいほど阻害性は大きくなる。セルロース、グルコース、酢酸、プロピオン酸、ゼラチンの5種類の細菌群に対して、MIC₅₀はそれぞれ1.2, 3.5, 8.5, 53.6,>104gCOD•g⁻¹Protein⁻¹であった。

セルロース、グルコース、酢酸、プロピオン酸、ゼラチンの種汚泥に対する疎水性実験を行った。種汚泥を適当に希釈してから、n-ヘキサデカンを加えた。菌体の一部分はn-ヘキサデカンに吸着するため溶液の菌体濃度は低下する。菌体濃度は吸光光度計で測定した。n-ヘキサデカンを加えない溶液の菌体濃度とn-ヘキサデカンを加えた溶液の菌体濃度の差は細菌群のn-ヘキサデカンへの吸着性を表す。最大相対吸着率を疎水性

Table 1 各種汚泥の最大相対吸着率とMIC₅₀

Seed	Hp	MIC ₅₀ (gCOD/gProtein)
Cellulose	0.13	1.2
Glucose	0.28	3.5
HAc	0.32	8.5
HPr	0.34	53.6
Gelatin	0.33	>104

指標(Hp)と定義した。この方法で求めた5種類の種汚泥、セルロース、グルコース、酢酸、プロピオン酸、ゼラチンの疎水性Hpはそれぞれ0.13、0.28、0.32、0.34、0.33であった。種汚泥の疎水性とMIC₅₀はTable 1に示した。

4. 考察

MIC₅₀は阻害性を表す場合によく用いられる指標である。MIC₅₀を基準とした異なる基質を分解する細菌群に対する高級脂肪酸の阻害強さは、セルロース>グルコース>酢酸>プロピオン酸>ゼラチンである。

阻害の原因は、一般に二つの方向で考えられている。第一は、阻害物質が細菌に付着することにより、細菌の活性を阻害することであり、第二には、阻害物質が直接酵素反応に対して阻害をおよぼすことである。酵素反応への阻害は拮抗阻害、不拮抗阻害および非拮抗阻害などが考えられている。本研究では、細菌群の疎水性と高級脂肪酸による阻害性には良好な相関関係が存在することが明らかになった。その原因として細菌に対する高級脂肪酸の阻害性は細菌と高級脂肪酸が吸着することによって行われることが推定される。疎水性相互作用の点から考えると、一般に親水性物質同志および疎水性物質同志は吸着し易いと言われている。高級脂肪酸は長鎖炭化水素鎖とカルボキシル基(-COOH)を持ち、長鎖炭化水素鎖は非極性(疎水性)であり、カルボキシル基は極性(親水性)を有している。Fig.1に示したように、水は極性(親水性)をもつため、水溶液系において高級脂肪酸は外表面にカルボキシル基を向け、中心に長鎖炭化水素鎖が集中したミセルを生成する。従って、反応槽内部では高級脂肪酸は、親水性物質として振る舞うため、親水性の細菌により吸着し易くなる。従って、疎水性の小さい細菌(親水性の大きい細菌)は疎水性の大きい細菌(親水性の小さい細菌)より高級脂肪酸が表面に吸着し易くなるため、阻害性が大きくなると考えられる。

5. 結論

- 細菌群の活性に対する高級脂肪酸の阻害性は、高級脂肪酸濃度の増加につれて強くなる。阻害性の特徴としては、基質分解に要する時間が長くなること、あるいは、遅滞期が長くなることがある。高級脂肪酸濃度ある一定濃度になると細菌群の活性は完全に停止する。
- セルロース、グルコース、酢酸、プロピオン酸、ゼラチン分解細菌群に対するMIC₅₀はそれぞれ1.2, 3.5, 8.5, 53.6,>104gCOD·g⁻¹Protein⁻¹である。
- 異なる細菌群に対する高級脂肪酸の阻害性の高い順は、セルロース>グルコース>酢酸>プロピオン酸>ゼラチンである。
- 疎水性割合の小さい細菌群は疎水性割合の大きい細菌群より、高級脂肪酸の阻害性が高い傾向が見られた。

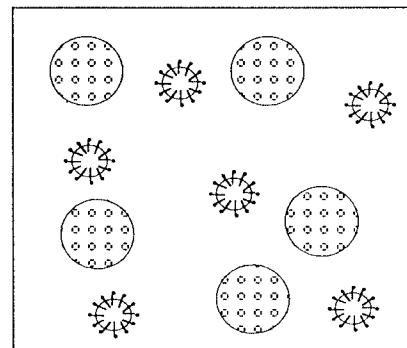


Fig.1 反応槽内における高級脂肪酸と細菌の存在状態の模式図

Long chain fatty acids
 Carbonhydrate : Hydrophobicity
 Carboxyl group : Affinity
 Bactria