

II-96

カキ殻中のコンキオリンがカキ殻接触材反応槽の付着微生物に及ぼす影響

岩手大学工学部 学生員 ○池ヶ谷 貴之 箱石和幸

正 員 相沢治郎 海田輝之 大村達夫

1. はじめに

我々の研究室では、これまでにカキ殻を接触材とした接触酸化法による水質浄化研究を行ってきた。しかし、貯水ダムに流入し上水源となるような比較的有機物濃度の低い河川水の場合、水質浄化の働き手である付着微生物の増殖に必要である有機炭素が少ないため、増殖が制限される。そこで、接触材として用いたカキ殻中の微量有機成分であるタンパク質（コンキオリン）が、付着微生物のもつ酵素により加水分解されアミノ酸になり、アミノ酸が付着微生物の炭素源、窒素源として利用される可能性がある。本研究は、カキ殻中のコンキオリンが付着微生物の増殖に及ぼす影響を検討することを目的としている。

2. 実験材料および方法

2-1 コンキオリンの抽出方法

本実験には、宮城県気仙沼産のカキ殻を使用した。コンキオリンは以下に述べる方法によりカキ殻より抽出した。カキ殻に付着している海藻類、生物死骸、細かい砂などをピンセットおよびタワシを用いて充分に除去し、水洗した後50～60℃で乾燥させ、木槌を用いて1～2メッシュ（20mm～10mm）に破碎した。その後、カキ殻中のカルシウム含有量の中和当量に比べて、やや過剰に2N-塩酸を加え、室温で一昼夜静置した。この間カキ殻は溶解し、溶液中に皮膜状の破片となって浮遊するコンキオリンが得られた。このコンキオリンを遠心分離にかけて分離し水洗した。その後、0.5%炭酸ナトリウム水溶液に一夜浸漬させ、塩素イオンが検出されなくなるまで水洗した。これをさらにアルコールに一夜静置し、アセトンで洗浄、乾燥することによって抽出した¹⁾。

2-2 コンキオリン中のアミノ酸組成

抽出したコンキオリンを加水分解し、アミノ酸分析器によりコンキオリン中のアミノ酸量を測定した。加水分解は、以下に述べる方法により行った。コンキオリン1.5mgと6N-塩酸1.0mlを硬質ガラスアンプルに入れ、脱気を行いながら口を密封した。その後、110℃で24時間加熱した。アンプルを開封し水酸化ナトリウムと五酸化リンと共にデシケーターに入れ、減圧乾燥した。乾燥した試料を1/20N-塩酸2mlに溶解させ、遠心分離により上澄みと沈殿物に分け、上澄み中のアミノ酸量をアミノ酸分析器（JLC-300アミノ酸分析器）により測定した。

2-3 付着微生物の増殖実験

付着微生物は、カキ殻を接触材とした水路に人工河川水を連続的に流入させ、付着増殖した微生物を採取し遠心分離により回収し、水洗して実験に用いた。実験は、1lのビーカーに付着微生物を入れ、Run1にはリンが1.6mg/lの濃度の基質とコンキオリン0.5gを添加し、Run2は、基質とコンキオリンを添加せず行った。ビーカーをインキュベーター内に入れ一定温度に保ち、エアレーションを行いながら経時的にMLVSS、NH₄-Nを測定した。

3. 結果および考察

3-1 コンキオリン中のアミノ酸組成

コンキオリン中のアミノ酸含有率を図-1に示す。本実験において確認されたアミノ酸は16種類であり、これはこれまでの報告と類似している^{1)、2)}。しかし、本実験ではシスチン酸が確認されており、これは十分に脱気を行わずに加水分解を行ったためにシステインが酸化されたものと考えられる。また、今回は酸による加水分解であるため、トリプトファンは分解されて検出されなかったが、今までの報告によりコンキオ

リンに含まれていることが確認されている。以上のことから本実験で用いたコンキオリンには18種類のアミノ酸が含まれていると考えられる。

本実験では、グリシンが最も多く約13.8%、ついでアスパラギン酸約13.4%、セリン約9.0%、アラニン約8.8%という結果になり、グルタミン酸はアラニンに次いで多く約5.7%であった。

3-2 付着微生物の増殖実験

図-2にRun1及びRun2のMLVSSの経時変化を示す。これより、コンキオリンを添加したRun1では実験開始8時間で、MLVSSが約200mg/l増加している。それに対してコンキオリンを添加していないRun2は、実験開始8時間で約100mg/l減少している。その後、どちらのRunにおいてもMLVSSは減少しているが、Run1とRun2の間には常に大きな差が見られる。

今回の実験で添加したコンキオリン量は、1l当たり0.5gとした。前述のコンキオリンのアミノ酸組成と各アミノ酸の分子量、分子式より今回実験に用いたコンキオリン中の有機炭素の割合は約36.2%となる。これよりRun1における有機炭素量は180mgとなる。収率を0.5、MLVSS中の炭素量を50%とすれば、これは微生物の増殖量と一致しており、コンキオリンが微生物の炭素源として有効であると考えられる。

図-3にRun1及びRun2のNH₄-Nの経時変化を示す。これよりNH₄-Nが時間の経過と共に増加しているのが分かる。実験に用いた基質のNH₄-N濃度0.004mg/lであったものが、Run1においてコンキオリン添加直後には0.333mg/lと約80倍に増加し、8時間後には0.006mg/lと減少している。図-2よりRun2では、MLVSSが400mg/l減少しており、それに伴いNH₄-Nが20mg/l増加している。このことからMLVSSとNH₄-Nの比が20:1となる。Run1におけるMLVSSの増加量が200mg/lなので微生物が消費したNH₄-Nは10mg/lとなる。コンキオリン中の窒素含有率は約9.6%で、Run1における窒素濃度は48mg/lになり今回の実験では約5分の1が消費されたと思われる。

以上のことから、コンキオリンは付着微生物にとってかなり有効な炭素源、窒素源になると考えられる。

4. おわりに

今回の実験で、抽出されたコンキオリン中には16種類のアミノ酸が確認でき、含有率はグリシンが最も高く、アスパラギン酸、セリンの順になった。また、付着微生物の増殖実験によりコンキオリンが、付着微生物により炭素源、窒素源として有効利用されることがわかった。

今後の検討課題としては、付着微生物の持つ酵素を抽出してのコンキオリンの分解実験、および付着微生物がカキ殻から直接コンキオリンを利用出来るか検討していきたい。

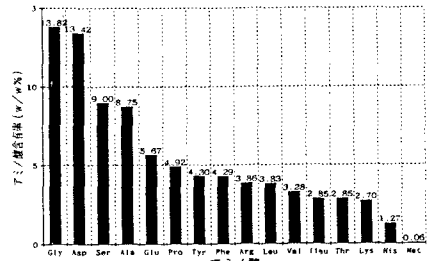


図-1 コンキオリンのアミノ酸組成

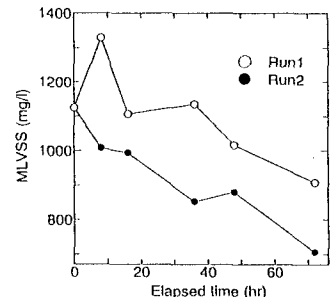


図-2 微生物量の経時変化

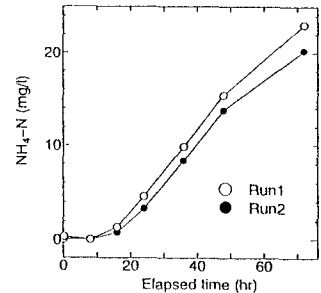


図-3 NH₄-Nの経時変化

参考文献

- 1) 横田弘司 (1981) カキ殻の利用に関する土壌肥料の研究
広島農短大報、6、pp549-639
- 2) 田中正三、波多野博行、喜安林三、高木豊 (1952)
真珠に関する生化学的研究(第3報) Conchiosilinのアミノ酸について
日誌、74、pp193-197