

(8) 生物化学的プロセスにおける有機成分の ゲルクロマトグラフィックな挙動

北海道大学工学部 丹 保 憲 仁
亀 井 翼
○高 橋 正 宏

1. はじめに

上下水道を中心とした都市の用排水系における水代謝の構造、形態を河川湖沼などの自然水域と関連して考察を行なうためには自然、人工の質変換機能を明確に評価し得る動的な水質指標が必要と思われる。

しかしながら、各種の水質変換プロセスにおいては多様な成分が様々な濃度で関与するため、一般に水中の有機成分をBOD、COD等で総括的に表示し、人工の処理施設から自然河川湖沼のような自然の水質変換の場における挙動を論じてきた。しかしCOD、BODの値が同じであってもそれらを構成する成分種、濃度の違いを無視しがたく、その挙動の一般化は難しく、得られた結果は確率的であり、ケーススタディ的な考察を繰り返すことになる。またCOD、BODの構成成分を各要素にまで分割しようとしても、それらの物質収支を満足しがたかったり、更にはそのグルーピングが各水質変換プロセスと1対1の対応をしなかったりして、工学的な目的からするグルーピングは必ずしも容易ではない。

そこで、水質変換プロセスとの対応を重視し物質収支を明確に取り得る一つの方法として、水質のマトリックス¹⁾的表現を提案した。主水質指標としてはTOC、紫外部吸光度のような一般的な因子をとり、それに粒径分布などの存在状態を重ね合わせることによって、総合水質指標のもつ情報量を増大させるのが、その主たる意図である。例えば、生物処理の機構を評価しようとする場合には、本来の生物化学的酸化による場合とか、実際に対象となる時間内では、生物酸化が関与しない生物凝集機構による場合、生物に吸着はされるが生物酸化的代謝はされず、吸着飽和に達すれば、それ以上除去されない場合などの除去機構があり、このような場合、BOD、COD、TOCのような濃度の総括的見方のみでは処理内容の明確な評価は困難である。そこで、マトリックス的な水質表示法を適用して、生物化学的処理プロセスにおける処理機構の内容を評価しようとするのが本論文の目的である。

2. 実験方法

i) 活性汚泥処理最終沈澱池上澄水のみによる生物処理実験

懸濁成分として、実際の下水処理場の最初沈澱池越流水中の1 μ フィルター抑留区分を用い、溶解性成分の代表としては、グルコースを用いる二種類の実験を行なった。実験に際しては、最後沈澱池上澄水を1% (体積)、エアレーションタンクに加えることにより植種を行なった。N、Pは基質の濃度に見合う充分な量を加えた。

ii) グルコース馴養活性汚泥による上澄水残置条件下におけるグルコース分解の多サイクル実験

あらかじめ馴養した活性汚泥 (MLSS、3000 ppm) を用い、1日サイクルでグルコース1000 ppmを加える。毎回グルコースを加える際には、上澄水を捨てずMLSS、3000 ppmに保つように余剰汚泥のみを引き抜いた。必要なN、Pなどの栄養塩はイオン強度のレベルをできるだけ増加させないために水中の残存N、P量を時々測定しながら必要の際にのみ追加した。なお、水温は20°C、pHは7付近に保つように調整した。

iii) 水質測定項目

主たる水質測定項目は表1に示すようなものである。特にTO

表1、測定項目

濃 度	カリン換算
TOC	溶解性 TOC: 0.45 μ メン ブランスルター 透過 全TOC: ホモジナイザー 使用
紫外部 吸光度 E ₂₆₀ , E ₂₂₀	0.45 μ メンブ ラン フィルター 透過
色 度	塩化白金酸カリウム 換算
グルコース	フェノール 硫酸法

C測定においては、高温触媒管における有機炭素と無機炭素の応答に問題があるので、あらかじめ試料をpH2以下に調整し、無機炭素を除き、有機炭素のみについての直接測定を行なった。また毎回の測定時間中における有機炭素検量線の安定性にも問題があるので高頻度で検定をした。懸濁性成分の粒径分布の測定、溶解性有機成分のゲルクロマトグラムパターン、有機成分の赤外線（IR）吸収スペクトル、核磁気共鳴（NMR）スペクトルなどの測定条件などを表2に示す。生物処理過程における懸濁性成分の粒径分布変化は、コールターカウンターにより、100 μ 径のアパーチャを用いて体積濃度で表現した。

溶解性有機成分のゲルクロマトグラムパターンを得るためのゲルクロマトグラフィーの大略の操作条件は表2に示すようであるが手法の詳細に関しては別報を参照されたい。

なお、後述するようなグルコースの生物代謝生成物である紫外部E260発現成分の性質を同定し、これと尿尿処理場生物処理水中のE260発現成分の化学構造との近似性などを評価するため、IRスペクトルとプロトンのNMRスペクトルを求めた測定のための試料の調整は以下に記すようである。

まず、有機成分のIR、NMRの正確なスペクトルを求めるためには、試料からできるだけ水と無機塩を除かなければならない。しかしながら、生物処理後、水中に残存しているE260発現有機成分は非常に親水的で各種の有機溶媒でも水から抽出することが困難である。したがって、減圧乾固により水を除去したのち、水に近い極性を有するピリジンによって残存した無機塩中の有機物を抽出することにする。この際、無機塩も若干、ピリジン側に移行するので、減圧濃縮し有機物よりも早く折出する無機塩を除くことを繰り返して有機物を精製する。

このようにして得られた有機物を十分に減圧乾固してピリジンを除去する。赤外部全域のスペクトルを得る場合は、KBr粉末に対する試料の比率を小さくし、赤外部の中でも特に指紋領域における微細なスペクトルを得る場合には、試料の比率を大きくしてKBr加圧ペレット法によりペレットを作成した。NMRスペクトル測定のためには、重水素ジメチルスルホキシドに試料を溶解して測定した。

3. 結果と考察

3-1. 懸濁性成分の挙動

図1に、懸濁性成分（G-15ゲルクロマトグラムのグループO成分）に関する実験結果を示す。後述するように、グルコースのようなG-15ゲルクロマトグラムのグループ8に属するグループが、すでに酸化分解をほとんど終えているような時間においても、遅々として分解が進んでいない。このことは代謝生成物指標としてのE260発現成分が、グルコースの場合に比して、ほとんど生成していないことから裏づけられる。

懸濁性成分が上述のような時間スケール内で、生物化学的酸化を受けないとすれば、その除去は生物が関与する凝集分離機構によることが予想される。そこで懸濁性成分の処理過程における粒径変化をコールターカウンターにより測定し、結果を図2、3、4に示す。エアレーションの進行と共に、ほとんど小粒径（5 μ 以下）であったものが、10 μ 程度に成長することからも明らかである。このこと

表2、粒径分布操作条件

SS成分の 粒径分布	コールターカウンター使用
ゲルクロマト グラム	使用ゲル: G-15ゲル カラム寸法: 2.5×90 cm 押し出し液: 最初蒸留水 次に 0.1N-NH ₄ OH液 押し出し速度: 70 ml/hour (蒸留水) 90 ml/hour (アモニア水) 試料添加量: 10 ml 試料濃度: 減圧濃縮により 20 倍 分取量: 1フラクション 10 ml
赤外線吸収 スペクトル	封入 KBr ペレット
プロトンの核 磁気共鳴 スペクトル	内部標準物質 テトラメチルシラン

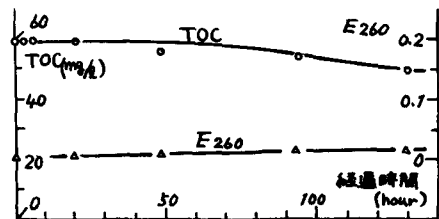


図 1 懸濁性成分の代謝実験

と、実際の下水処理場においても、曝気槽に流入してくる懸濁性成分濃度の変動がきわめて大きいにもかかわらず、3～4時間という、短時間後に最後沈殿で、ほとんどよく除去されていることは（札幌市創成川処理場における最後沈殿池越流水の濁度は5～10 ppm程度である。）懸濁性成分の除去が生物酸化的な分解によってよりも、生物凝集によって主として行なわれていることを示唆する。したがって固液分離過程に関する限り、懸濁性成分の生物酸化はほとんどない。

3-2. グルコースの分解と代謝生成物の出現

前報で明らかにしたように生物酸化のもっとも容易な下水中のグループ8に対応する成分として本実験ではグルコースを用いた。最後沈殿池上澄水を接種したのみで曝気酸化を行なったグルコースの減少と、それに伴う生物微ブロック（濁度成分）の増減および代謝生成物としての紫外部E260発現成分の出現パターンを図5に示す。この結果を図1の懸濁性成分の挙動と対比すると、グルコース（グループ8）における生物酸化的除去機構が格段に卓越していることが明らかである。

E260発現代謝生成物の出現量は、そのときの生物酸化有機成分の初期濃度に比例し、また、いったん発現した代謝生成物は、長期間曝気を行ってもほとんど減少しないことから難生物分解性有機成分であることを示している。グルコースがほぼ完全に除去された時点で、E260発現代謝生成物の濃度が最大値を示す。その直後、若干減少を示すのは、生物により酸化分解されたと考えるよりは、生物微ブロックに若干、吸着されたためと考えられる。

このように、インプットに全く存在しなかった成分がアウトプットに出現するようなプロセスの除去特性を説明する場合には、TOC、COD、BOD、色度のような総括的指標のみでは内容を表現できない。また、糖、アミノ酸、酢酸など個々の成分の存在をあらかじめ、推定して測定する方法では、測定すべき成分の予測が困難で物質収支が取り難い。

このような代謝生成物が、先に述べたマトリックスの水質表現に基づくG-15ゲルクロマトグラム上のどのようなグループに出現するかは、図6、7、8、9に示すようである。エアレーション開始前には、クロマトグラムのグループ1、2、4、6に有機成分の存在は認められなかったがエアレーションの進

行につれて、グループ8のグルコースが減少し、その代りに代謝生成物としての懸濁成分（グループ0）とグループ1、2、4、6が出現してくる。これらの成分中、グループ2、4、6に属するものは、いったん発現したのちはほとんど変

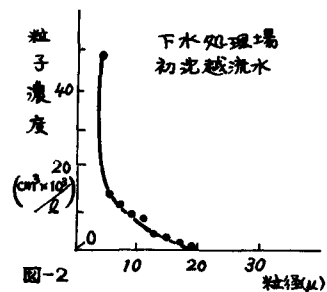


図-2

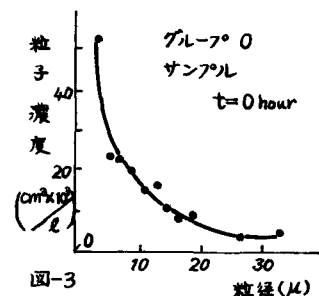


図-3

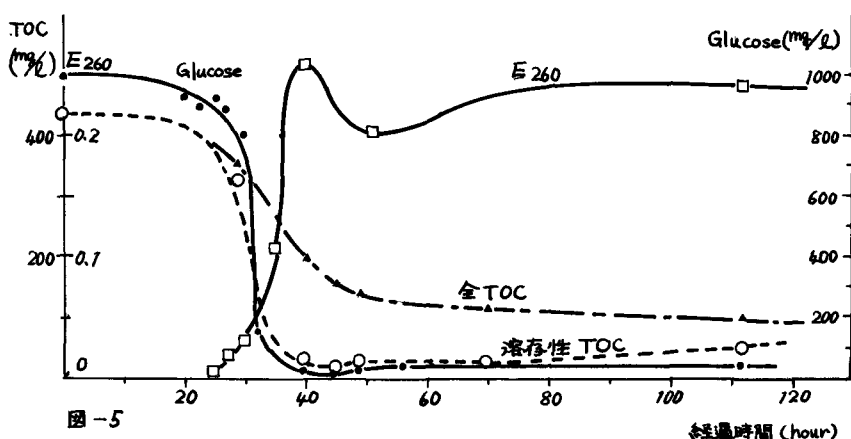
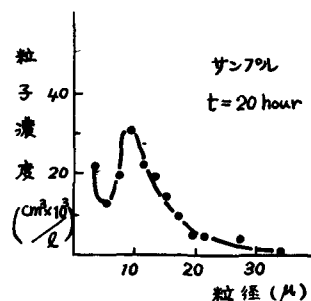


図-5

化しない。グループ1に属する成分は、一定時間までは増加し、その後は減少の方向をたどり、速度は遅いけれども減少してゆく。恐らく実際の処理場でも、滞留時間、その他の因子により最も変動するのは、グループ1の成分であり、動力学的水質マトリックスの取り扱いにおいて最も考察を要する溶解性グループと思われる。

3-3 グルコースの減少速度に及ぼす代謝生成物の影響

グルコース由来の生物代謝生成物として、純粋培養系では、アルコール類、フェノール類などのように混合微生物培養系においては代謝し分解されるような中間生成物の存在が知られている。筆者らの下水等の混合培養系における長時間実験ではTOC/E260がほぼ60以下であれば、ほとんど分解が進まなくなる成分の存在が見出された。

このような生物代謝生成物は、ただ単に、難生物分解性有機成分として、生物酸化を受けることなく、他の生物化学的反応に何等の影響を与えずに存在し得るのであろうか？

または、その存在は生物化学的反応に何等かの影響を与えるのであろうか？

そこで、グルコースの生物代謝生成物が生物化学的に急性毒性を示さない成分であったにしても、グルコースのような物質の生物化学的酸化作用の速度、または到達度に何等かの影響を与えるか否かを観察しようとした。(このことは、現実には、活性汚泥による基質除去速度に影響を与える因子として、細胞内貯蔵物質²⁾のみならず、活性汚泥細胞に吸着し、本来、生物処理プロセスのよき除去対象となるべきグループ3の細胞膜透過を阻害するE260成分の影響も無視できないことになるかもしれない。)

このようなことを、確認するために、余剰汚泥のみを排除し、液相を保存して毎日、グルコースを加える実験を行い、その結果を図10に示す。

図から明らかなように、最初E260発現代謝生成物がほとんど存在しないときには、迅速に除去されていたグルコースが代謝生成物の増加につれて、その除去速度を小さくしてくる。グルコースの除去速度は図11に見られるように片対数で直線を示し、1次反応に近似し得る。その結果得られた各サイクルの反応速度定数 k の変化とそのサイクルに存在しているE260発現代謝生成物を対比して描いたものが図12である。

グルコース除去速度の低下が共存する無機塩とか、多糖のようなE260非発現有機成分によるものでな

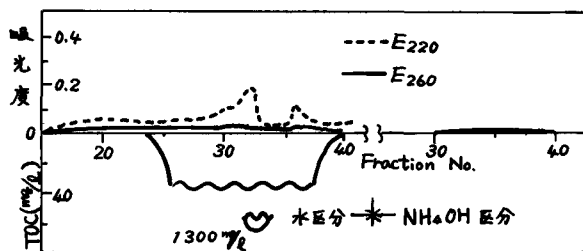


図6 エアレーション開始時 $t=0$ 時間

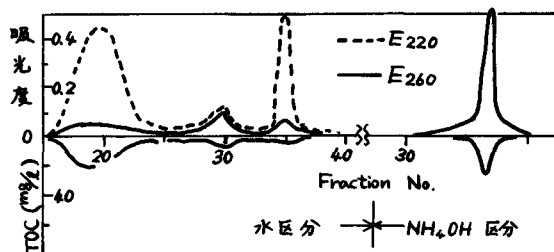


図7 開始後 40 時間 (濁度最大)

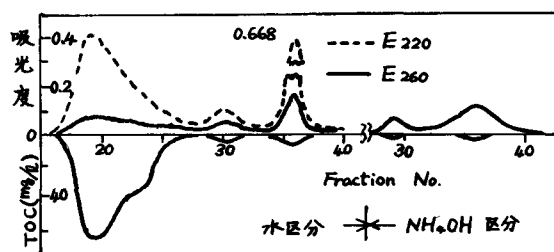


図8 開始後 52 時間

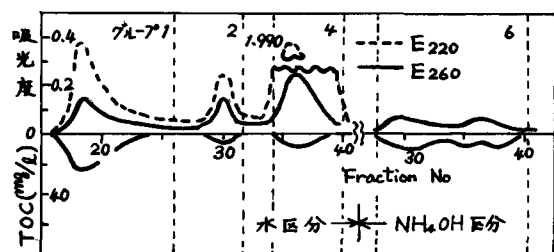


図9 開始後 388 時間

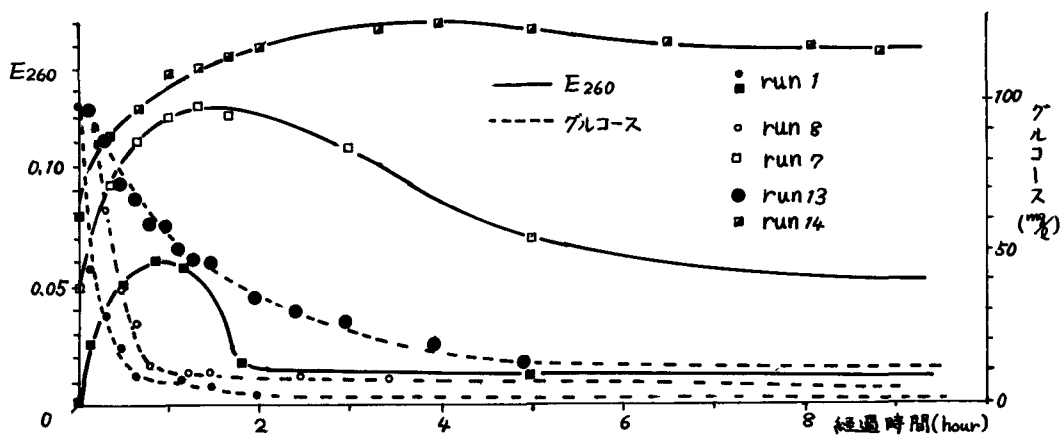


図10 各サイクル (run) でのグルコース, E260 の挙動

いことを確認するために、反応速度の低下した末期のサイクルで次のような二つの実験を試みた。

その1つは、システムを一般のフィルアンドドロー方式に切り換えて運転したところ、図18に示されるように短時間で除去速度が回復した。

また、グルコース代謝後、溶液を活性炭吸着処理して、E260発現代謝生成物のみを除き、かつ余剰汚泥だけを排除するサイクルを後置したところ、同様に短時間でグルコースの除去速度が回復した。

このことは、活性炭吸着処理、フィルアンドドローなどにより、活性汚泥の外部水溶液にE260発現代謝物がほとんど存在しないため、活性汚泥に吸着していたE260発現成分が、今までとは逆の濃度勾配に従って脱着し、グルコースの細胞内への取り込み障害が除去され、除去速度が回復したものと思われる。

これらのことから、E260発現代謝生成物が溶液中に存在することにより、代謝速度が減少することが明確に示された。したがって、実際の廃水処理においても、極端に、難生物分解性のE260発現成分の多い原水（例えば、パルプ廃水、屎尿など）中の低分子糖、酢酸などの除去速度は、E260発現成分が少ない原水に比して小さくなることが予想される。

このような場合、水中で溶存酸素を消費する、糖、有機酸などの速やかな減少を望むのであれば、あらかじめ活性炭吸着処理などでE260発現成分を除去することにより、短時間で糖、有機酸などを処理できるようになる。

4. グルコース代謝生成物と屎尿処理場放流水中の有機物との近似性

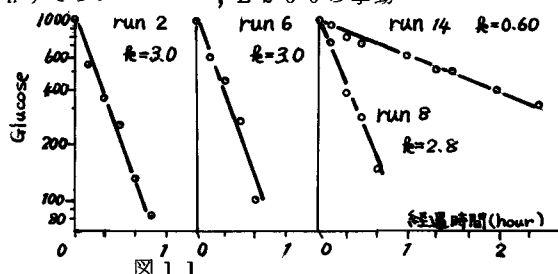


図11

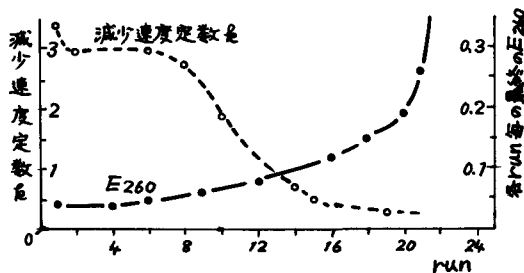


図12

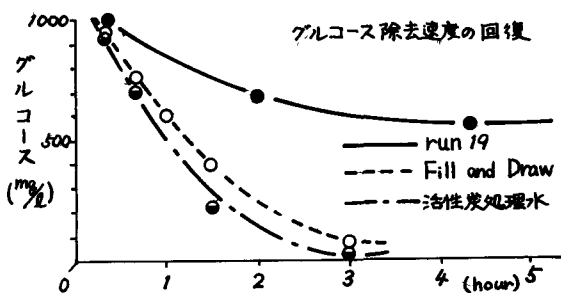


図13

尿処理場放流水中の有機物とグルコースからの代謝生成物のIRスペクトルとNMRスペクトルは図14, 15, 16に示すようである。指紋領域におけるスペクトルに注目して両試料を比較するとかなりの同一性を示していることが明らかである。

なおグループ1のE260発現成分も、グループ4のE260発現成分も、サイズは異なるが、化学構造的には、ほぼ同類的な傾向を示していることがNMRスペクトルより明らかである。

単一成分のグルコースから生成した有機物群と初めから複雑な組成をもった尿尿の生物処理生成物がほぼ同様成分に最終的に収束することは、きわめて興味深い。

結局、混合微生物活動によって最終的に安定な代謝産物となって、自然界に放出され、存在するものは、上述したG-15ゲルクロマトグラムのグループ1, 2, 4, 6に存在し、TOC/E260の値が60以下で、しかも、図14, 15, 16のようなIR, NMRスペクトルを示すものであろう。その代表的なものが、自然水中のフミン、フルボン酸などと称されている成分であらう。

5. おわりに

本報告は、水質のマトリックス的評価の研究のための一環であり、最初に提案した水質プロセス同定のための相互的なマトリックス表示に加えて、各プロセスの内容に立ち入って、マトリックスを適用し得ることを示すものである。

このような、サブ水質マトリックスの研究については、凝集⁽⁵⁾、吸着⁽⁴⁾サブマトリックスについて、一部報告した。ここでは、更に生物処理プロセスについてのサブマトリックスを加えた。

これらのサブマトリックスを用いて、次には、各プロセスの動的な評価、表現に進みたいと考えている。

5. 参考文献

- 1、丹保、亀井：9回衛生工学討論会論文集，P 30（1973）
- 2、例えば、合田、宗宮、津野：土木学会論文報告集，P 17，第213号（1973）
- 3、丹保、亀井、鍋島、厚海：第27回水道研究発表会講演集，P 395（1976）
- 4、丹保、亀井、西村、福士：第12回衛生工学討論会論文集，P 1（1976）

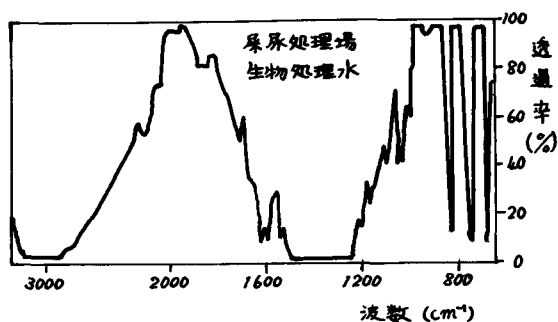


図14 IR

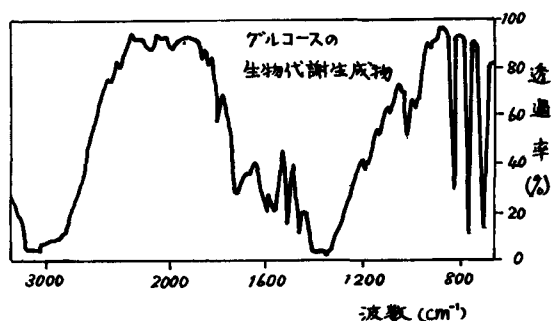


図15 IR

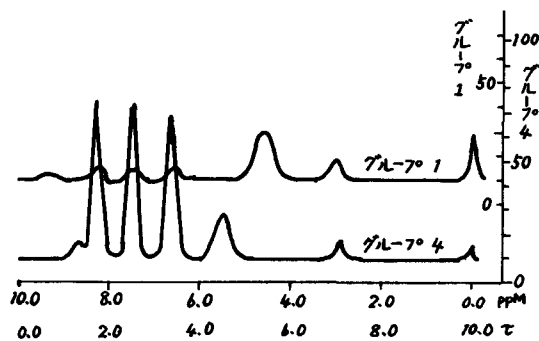


図16 尿処理場生物処理水のNMR